

## **ERRATA**

pg. 71 - Primeiro parágrafo : Onde se lê ...os fatores VII e V ativados, leia-se ...os fatores VIII e V ativados.

pg. 74 - Segundo parágrafo : A sigla PNP significa : procedimento de neutralização de plaquetas.

**CARLOS AUGUSTO SEIXAS**

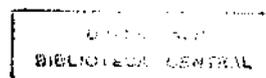
**ESTUDO DE COMPONENTES DA  
HEMOSTASIA EM CRIANÇAS PORTADORAS  
DE TROMBOSE DA VEIA PORTA**

*Dissertação de Mestrado apresentada  
à Faculdade de Ciências Médicas da  
Universidade Estadual de Campinas  
para obtenção do título de Mestre em  
Medicina, na Área de Medicina Interna*

**Orientadora: Profa. Dra. Joyce M. Annichino-Bizzacchi**

**Co-Orientador: Prof. Dr. Gabriel Hessel**

**UNICAMP  
1996**



UNIDADE	-BC
N.º CHAMADA:	UNICAMP
	Se45e
V.	Ex.
TOMBO BC/	28908
PROC.	627/96
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	30/10/96
N.º CPD	

CM-00053785-1

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS**

**UNICAMP**

Seixas, Carlos Augusto

Se45e Estudo de componentes da hemostasia em crianças portadoras de trombose da veia porta/ Carlos Augusto Seixas. Campinas, SP: [s.n.], 1996

Orientadora : Joyce Maria Annichino-Bizzacchi

Tese (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.

1. Hemostase. 2. Trombose. 3. Criança. I. Joyce Maria Annichino-Bizzacchi. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. III. Título

## Banca Examinadora da Dissertação de Mestrado

Aluno: Carlos Augusto Seixas

---

Orientadora: Profa. Dra. Joyce Maria Annichino-Bizzacchi

---

### Membros:

1.

2.

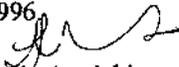
3.

Curso de Pós-Graduação em Medicina, na Área de Medicina Interna da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data:

27/8

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação de Mestrado, apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Medicina, área Medicina Interna da FCM/UNICAMP, para obtenção do título de Mestre em Medicina, área Medicina Interna, do aluno CARLOS AUGUSTO SEIXAS.  
Campinas, 27 de agosto de 1996.

  
Prof. Dra. Joyce Maria Annichino-Bizzacchi  
Orientadora

---

## **DEDICATÓRIA**

À meu pai, **Mário Augusto Seixas**, “in memoriam”, pelo exemplo de dignidade e por ter me mostrado os valores que ainda hoje norteiam os meus caminhos.

---

À Ana, companheira de todas as horas, pelo amor, dedicação, incentivo, participação e compreensão nos momentos de recolhimento, sem o que este trabalho não seria possível.

---

À minha **mãe, Gracia**, pelo amor incondicional.

Aos meus **filhos, André, Felipe, Fernanda e Marina**  
que com juventude e vigor muito me estimularam nessa  
ádua tarefa.

À **Guida e Mário**, meus “**segundos-pais**” por terem me  
“adotado” e incentivado.

---

## **AGRADECIMENTOS**

De forma muito especial à **Prof. Dra. Joyce Maria Annichino-Bizzacchi**, pelo apoio, atenção e principalmente pela competência ao orientar este trabalho.

Ao **Prof. Dr. Gabriel Hessel** pela inestimável compreensão e grande interesse dispensados no transcorrer deste estudo.

Ao **Prof. Dr. Roberto Jarbas de Toledo**, “in memorian”, por ter mostrado pela primeira vez os caminhos para a realização desta pesquisa.

À **Universidade São Francisco** que me deu condições para o desenvolvimento deste trabalho, na pessoa do seu **Reitor Frei Constâncio Nogara**.

Aos meus colegas da **Disciplina de Pediatria** da Faculdade de Ciências Médicas da USF pelo incentivo e cooperação.

Ao amigo **Sergio Roberto Barbosa Lima**, “in memorian”, pelo exemplo de profissional deixado.

---

Ao **Adalmir Elias Duaik** pela paciência e competência com que conduziu a análise estatística desta pesquisa.

Ao Núcleo de Hematologia e Hemoterapia da Universidade São Francisco, USF, especialmente ao seu competente diretor, meu caro amigo **Newton Carlos Polimeno** e à bioquímica **Júlia Acedo** que ajudaram a tornar esse trabalho possível.

À **Cristina C. Ribeiro, Tânia F. G. S. Machado, Andréa M. Galizoni e Lucia Helena de Siqueira**, do Laboratório de Hemostasia do Hemocentro da UNICAMP, pela atenção e dedicação.

Ao **Olmiro Ferreira Silva** pela revisão da língua portuguesa.

Às **crianças (e seus pais)** que participaram deste estudo e que com um ato de grandeza doaram um pouco de si para que este trabalho de pesquisa fosse realizado.

E finalmente, não por uma importância derradeira, mas sim porque merecem destaque muito especial, aos meus **amigos-irmãos: Mandia e Enida, Fausto e Tanya, Claudio e Vilma, Fernando e José Luis e Jô**, porque eu sei que torceram por mim e ficaram felizes com esta conquista.

---

# ***SUMÁRIO***

## ***ABREVIATURAS E SIGLAS***

## ***RESUMO***

<b><i>1. INTRODUÇÃO</i></b> .....	<b>1</b>
<b><i>2. OBJETIVOS</i></b> .....	<b>18</b>
2.1. OBJETIVO GERAL .....	18
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	18
<b><i>3. CASUÍSTICA E MÉTODOS</i></b> .....	<b>19</b>
3.1. CASUÍSTICA.....	19
3.2. MÉTODOS .....	29
ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	34
<b><i>4. RESULTADOS</i></b> .....	<b>35</b>
4.1. AVALIAÇÃO DOS PARÂMETROS DA COAGULAÇÃO .....	35
4.2. AVALIAÇÃO DOS FATORES DE COAGULAÇÃO .....	40
4.3. AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FIBRINOLÍTICA .....	49
4.4. AVALIAÇÃO DOS INIBIDORES DA COAGULAÇÃO.....	52

---

4.5. AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO DE SÍNTESE PROTÉICA HEPÁTICA .....	58
4.6. FATOR V DE LEIDEN.....	58
4.7. ANTICOAGULANTE LÚPICO .....	58
4.8. D-DÍMERO.....	59
<b>5. DISCUSSÃO .....</b>	<b>61</b>
<b>6. CONCLUSÕES .....</b>	<b>77</b>
<b>7. APÊNDICES.....</b>	<b>79</b>
<b>8. SUMMARY .....</b>	<b>96</b>
<b>9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS* .....</b>	<b>98</b>

---

## **SÍMBOLOS E ABREVIATURAS**

## **SÍMBOLOS E ABREVIATURAS**

---

---

<b>&amp;</b>	e comercial
<b>®</b>	Nome comercial de medicação
<b>µl</b>	Microlitro
<b>Ag NO<sub>3</sub></b>	Nitrato de prata
<b>AL</b>	Anticoagulante lúpico
<b>ALPF</b>	Área de lise em placa de fibrina
<b>C4bBP</b>	Inibidor do Sistema Complemento
<b>CAPM</b>	Cininogênio de alto peso molecular
<b>CIVD</b>	Coagulação intravascular disseminada
<b>cm</b>	Centímetro
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>DMSO</b>	Dimetil sulfóxido
<b>ECAT</b>	European Concerted Action on Thrombosis
<b>EDTA</b>	Etilenodiaminotetracetato
<b>FIBR</b>	Fibrinogênio
<b>HP</b>	Hipertensão portal
<b>IgG</b>	Imunoglobulina G
<b>IgM</b>	Imunoglobulina M
<b>ISI</b>	Índice de Sensibilidade Internacional
<b>LES</b>	Lupus eritematoso sistêmico
<b>mgCl<sup>2</sup></b>	Cloreto de magnésio
<b>ml</b>	Mililitro
<b>mm<sup>3</sup></b>	Milímetro cúbico
<b>n</b>	Número de casos
<b>ng</b>	Nanograma
<b>NPP</b>	Nutrição parenteral
<b>°C</b>	Graus centígrados
<b>PAI</b>	Inibidor do ativador do plasminogênio
<b>PCR</b>	Reação em cadeia pela polimerase
<b>PDF</b>	Produto de degradação da fibrina

---

<b>pH</b>	Potencial hidrogeniônico
<b>PMA</b>	Peso molecular alto
<b>PMI</b>	Peso molecular intermediário
<b>Pré-alb</b>	Pré-albumina
<b>Prot C</b>	Proteína C
<b>Prot S</b>	Proteína S
<b>Prot SL</b>	Proteína S livre
<b>Prot ST</b>	Proteína S total
<b>RNI</b>	Relação Normalizada Internacional
<b>rpm</b>	Rotações por minuto
<b>rt-PA</b>	Ativador do plasminogênio recombinante
<b>scu-PA</b>	Uroquinase de única cadeia
<b>SSCP</b>	Polimorfismo de conformação em hélice simples
<b>TLE</b>	Tempo de lise de euglobulina
<b>t-PA</b>	Ativador tissular do plasminogênio
<b>TP</b>	Tempo de protrombina
<b>TT</b>	Tempo de trombina
<b>TTPA</b>	Tempo de tromboplastina parcial ativado
<b>TVP</b>	Trombose da veia porta
<b>u-PA</b>	Uroquinase
<b>V</b>	Volts
<b>Va</b>	Fator V ativado
<b>VIIIa</b>	Fator VIII ativado
<b>X</b>	Média
<b>Xa</b>	Fator X ativado

---

**RESUMO**

---

## **RESUMO**

---

A trombose de veia porta (TVP), apesar de ser uma condição relativamente rara em crianças, possui importante grau de morbidade e ocasionalmente mortalidade. Alguns fatores como infecções, anomalias congênitas, cateterismo umbilical e trombofilia primária têm sido associados à TVP. As alterações da hemostasia, na criança, têm sido pouco estudadas e, portanto, poucos são os dados disponíveis na literatura. Com o intuito de estudar alguns componentes da hemostasia em portadores de TVP, avaliamos alguns parâmetros da coagulação e fibrinólise. Também foram avaliados os anticoagulantes naturais e o fator V de Leiden, como possíveis fatores etiológicos da TVP. Analisando a coagulação e a fibrinólise encontramos um alongamento do TP e do TT, fato este que poderia ser explicado por uma ativação da coagulação, embora não tenha havido um aumento de D-dímero. Também pode ter ocorrido uma diminuição de síntese protéica dos fatores de coagulação, embora o fator VII estivesse normal, e ele é um dos primeiros a se alterar na diminuição de síntese protéica hepática. Verificou-se, também, diminuição dos fatores II e V, o que poderia explicar o aumento do TP. Essa diminuição poderia ser conseqüente a uma diminuição seletiva de síntese ou a um aumento do consumo pela ativação da coagulação e coagulação intravascular localizada, ou ainda pela fibrinólise secundária.

---

Notou-se diminuição do fibrinogênio que poderia ser explicada por uma alteração funcional do fibrinogênio, levando a uma disfibrinogenemia, ou por diminuição de síntese protéica, ou ainda, por uma coagulação intravascular localizada ou fibrinólise primária. Nosso estudo mostrou não haver comprometimento no metabolismo da vitamina K, nos pacientes com TVP, uma vez que apenas o fator II, entre os dependentes da vitamina K, estava diminuído. Os níveis normais de PROT C e PROT S, nos doentes, reforça essa afirmação. A hiperfibrinólise constatada pelo aumento da área de lise em placa de fibrina e a diminuição do tempo de lise de euglobulina pode ter contribuído para a diminuição seletiva do fator V. Pode ter havido uma coagulação intravascular localizada, já que sua caracterização pressupõe simultaneidade entre a ativação da coagulação e da fibrinólise, ainda que não tenhamos encontrado aumento de D-dímero. O fator V de Leiden, embora seja a alteração congênita mais freqüente para risco de trombose, não teve papel etiológico em nossos pacientes, já que não foi encontrado em nenhum deles. Um paciente apresentou níveis de PROT C diminuídos, sendo que essa deficiência não era congênita, pois os pais tinham níveis normais de proteína C. Provavelmente essa deficiência foi uma conseqüência e não causa da TVP, uma vez que essa criança também apresentava níveis diminuídos de fator V e de pré-albumina e um prolongamento do TT e do TP, sugerindo diminuição de síntese protéica. Anticoagulante lúpico foi encontrado em um paciente e pode ser considerado como fator causal da TVP. A diminuição dos níveis de pré-albumina pode significar, uma diminuição de síntese em função da modulação, ou comprometimento dessa síntese. Assim, pelo do estudo de alguns parâmetros da hemostasia conseguiu-se determinar níveis plasmáticos de vários componentes da coagulação e da fibrinólise em pacientes com TVP. Não foram encontrados, em nossos estudos, deficiências congênitas ou adquiridas dos inibidores da coagulação ou presença do fator V de Leiden na etiologia da TVP.

---

## **INTRODUÇÃO**

---

# **1. INTRODUÇÃO**

---

## **1.1. Aspectos Gerais da Trombose da Veia Porta**

Trombose venosa profunda é uma causa bem conhecida de morbidade e mortalidade em adultos e tem sido exaustivamente estudada. Este evento é relativamente raro em crianças mas, quando presente também possui importante grau de morbidade e ocasionalmente mortalidade. Em função da baixa incidência de trombose venosa profunda em crianças, a abordagem diagnóstica e terapêutica é baseada em dados obtidos em adultos (DAVID & ANDREW, 1993).

Trombose da veia porta (TVP), condição relativamente rara que afeta crianças e adultos, ocorre em associação com uma grande variedade de fatores predisponentes e produz uma série de alterações clínicas (COHEN, EDELMAN, CHOPRA, 1992).

A incidência de complicações tromboembólicas venosas é idade dependente. Estima-se que sua incidência seja de 0,07/10.000 na população

pediátrica, enquanto que na população adulta é de 5,3/10.000 admissões hospitalares (BOVILL, ANDREW, MICHELSON, 1995).

Pela primeira vez descrita por BALFOUR & STEWART em 1868, a TVP é considerada a causa mais freqüente de hipertensão portal extra hepática em pacientes com função hepática normal (BELLI e cols., 1989).

Quando a circulação portal está obstruída, seja intra ou extra hepática, desenvolve-se uma notável circulação colateral para transportar o sangue portal para as veias sistêmicas. Na situação da trombose da veia porta, obstrução do tipo extra-hepático, formam-se colaterais adicionais, tentando contornar o bloqueio e manter o fluxo em direção ao fígado. Esse tipo de obstrução extra-hepático representa a causa mais freqüente de hipertensão portal em crianças, quando considerada como causa isolada (ALVAREZ e cols., 1983) e também representa a causa mais comum de sangramento alto do trato gastrointestinal em crianças (SAHNI, PANDE, NUNDY, 1990).

Em países desenvolvidos, tais pacientes compreendem 5 - 10% de todos os casos de hipertensão porta (H.P.), porém em países em desenvolvimento esta proporção é maior, podendo chegar a 40% (SAHNI e cols., 1990).

Apesar de terem ocorrido durante a última década consideráveis avanços diagnósticos e terapêuticos na hipertensão portal secundária a trombose da veia porta há poucos estudos a respeito dos fatores etiológicos realmente

implicados na gênese desse processo. Muitas condições predisõem à TVP, dentre essas, infecções, processos inflamatórios, condições que levam a um decréscimo de fluxo portal, invasão direta ou compressão extrínseca da veia porta por tumor, manipulação mecânica da veia porta e estado de hipercoagulabilidade (COHEN e cols., 1992).

O fator etiológico mais freqüentemente associado à TVP em crianças é infecção, contribuindo em aproximadamente 50% dos casos (WEBB & SHERLOCK, 1979). A septicemia umbilical neonatal é a causa isolada mais freqüente, e está presente em aproximadamente 20% das crianças com TVP. Outras infecções como apendicite, sepsis por cirurgia do trato biliar, peritonite, desidratação, também têm sido relatadas como causa de TVP (COHEN e cols., 1992).

Alguns autores sugerem associação de trombose da veia porta com algumas anomalias congênitas, como defeito septal ventricular e atrial, deformidade da veia cava inferior e anormalidades do trato biliar (ODIÈVRE, PIGÉ, ALAGILLE, 1977; ALVAREZ e cols., 1983), e hemoglobinúria paroxística noturna (WARE, HALL, ROSSE, 1991).

ALVAREZ e cols. (1983), estudando 108 casos de trombose veia porta em crianças, encontraram 21 (19%) pacientes com malformação congênita, sendo que 11 envolvendo o sistema cardiovascular.

DAVID & ANDREW (1993), estudando 308 casos de crianças com trombose venosa profunda, verificaram que em 65 (21%) pacientes o agente etiológico era a cateterização venosa, seguidos de cirurgia com 13%, trauma 8,8%, infecção com 6,2%, NPP com 5,5% e alterações da hemostasia causando predisposição à trombose contribuindo com 32 casos (3,9%) seguidos de outras causas menos frequentes .

A trombose da veia porta ocorre em 3% a 5% das crianças após transplante hepático (DAVID & ANDREW, 1993).

Os estados de hipercoagulabilidade hereditários podem predispor pacientes à trombose veia porta. Os distúrbios familiares da coagulação que têm sido associados a trombose veia porta incluem deficiência de proteína C, proteína S, Antitrombina III, deficiência de plasminogênio e disfunção de fibrinogênio (DAVID & ANDREW, 1993; ARNOLD, CHAR, SERJEANT, 1993). Pacientes com esses distúrbios frequentemente têm seu primeiro evento trombótico quando adulto jovem.

A deficiência adquirida de antitrombina III pode estar presente em pacientes com síndrome nefrótica, CIVD, queimados com infecção, desnutridos, doenças inflamatórias dos ossos e administração oral de estrógenos.

Outra causa possível de trombose de veia porta é a fibrose portal não cirrótica, uma causa freqüente de hipertensão portal na Índia. Essa doença é caracterizada por fibrose periportal e histologia hepática normal.

A oclusão da veia porta por um trombo freqüentemente não produz manifestações agudas. O trombo se organiza e vasos colaterais gradativamente se desenvolvem ao redor do vaso ocluído constituindo um processo denominado transformação cavernomatosa. Os pacientes geralmente procuram atendimento médico quando desenvolvem sequelas da hipertensão portal, notadamente hemorragia varicosa.

Quanto aos aspectos clínicos, pacientes com TVP freqüentemente apresentam hematêmese, por ruptura de varizes esofageanas, e esta é a razão mais freqüente para que o paciente procure atendimento médico. Melena também é freqüentemente relatado, entretanto, aproximadamente 10% dos pacientes nunca sangraram (DAVID & ANDREW, 1993). Dor abdominal também é freqüentemente relatada quando a trombose envolve vasos mesentéricos e produz isquemia intestinal. Outras queixas comuns são: náuseas, vômitos, anorexia, perda de peso, diarréia e distensão abdominal (ALVAREZ e cols., 1983; BROWN, KAPLAN, DANOWITZ, 1985).

Esplenomegalia é um achado freqüente nos pacientes portadores de TVP, ao contrário, hepatomegalia não é um sinal clínico comum, assim como a

ascite, que quando presente é habitualmente transitória. Os pacientes podem também apresentar febre, freqüentemente, baixa.

### **Achados Laboratoriais:**

Em estudo realizado por ALVAREZ e cols. (1983) em 108 pacientes a maioria tinha função hepática normal e bilirrubinas discretamente aumentadas (5 pacientes). Seis pacientes tinham sorologia positivas para hepatite B. A trombocitopenia estava presente em aproximadamente 50% dos pacientes estudados.

Os testes de coagulação feitos em 104 pacientes mostraram que o fator V era o mais freqüentemente diminuído.

### **1.2. Aspectos Gerais da Hemostasia**

Em todos os vertebrados o sangue flui em um circuito fechado sob uma pressão relativamente elevada. O termo hemostasia compreende todos os processos envolvidos para evitar as perdas que possam aparecer no circuito. Igualmente a hemostasia refere-se ao processo de reinstauração da circulação sangüínea no referido circuito quando de uma prévia trombose em um ponto qualquer do mesmo (VERSTRAETE & VERMYLEN, 1989).

Três são os elementos presentes na manutenção da hemostasia normal: vasos, plaquetas e fatores de coagulação, que incluem pró-coagulantes, inibidores e fibrinolisinases.

A primeira resposta a uma lesão vascular é a interação plaqueta-endotélio vascular: hemostasia primária. Após alguns segundos ocorre a vasoconstrição miogênica e as plaquetas aderem-se ao colágeno do sub-endotélio exposto (DAVIES, 1993).

A resposta secundária envolve a coagulação e compreende uma série de reações entre fatores inativos, presentes no plasma sob forma de pró-enzimas ou zimógenos e de co-fatores, culminando com a formação do coágulo. Estas enzimas e co-fatores podem exercer funções distintas; umas favorecem a coagulação, outras impedem-na, modulando tal processo. Disto resulta uma ação equilibrada e dinâmica dos fatores pró-coagulantes e dos inibidores fisiológicos da coagulação cujo equilíbrio impede que a formação de um trombo em determinada lesão se generalize.

Como complemento a este processo de hemostasia atua o sistema fibrinolítico que lisa ou dissolve o coágulo e é constituído por um zimógeno (o plaminogênio), uma protease ativa (plasmina) além de ativadores e inibidores da plasmina que compõem um sistema modulador mantendo a fibrinólise auto controlada.

## **Coagulação Sangüínea**

O sistema de coagulação é classicamente dividido em sistema extrínseco e intrínseco. Alguns componentes que participam de ambos os sistemas compõem o sistema comum.

### **Sistema Intrínseco**

O sistema intrínseco, lento, inicia-se pela ativação de três pró-enzimas que se interagem. A ativação do fator XII, "*in vitro*", se dá mediante seu contato com superfície de carga negativa, dando origem a quatro cadeias XIIa, XIIf, XII-PMA (peso molecular alto) e XII-PMI (peso molecular intermediário) e necessita da presença de calicreína. As quatro cadeias ativam a pré-calicreína em calicreína, que também ativa o fator XII. As cadeias XIIa e XIIf ativam o fator XI, que também contribui indiretamente para a ativação do fator XII, ao ativar a pré-calicreína por intermédio de seu co-fator CAPM (cininogênio de alto peso molecular). A função do CAPM parece ser dupla: proporciona melhores condições para ativação da pré-calicreína, fatores XII e XI e protege a calicreína da inativação pelo seu mais importante inibidor, o C1-inibidor. Os fatores XIIa e XIIf também ativam o fator VII colaborando para o início da coagulação extrínseca.

### **Sistema Extrínseco**

A tromboplastina ou fator tissular é uma proteína da membrana celular que, na presença de determinados fosfolípidios, possui propriedade de ativar a coagulação. A tromboplastina está presente no cérebro, pulmão, tireóide, placenta, gordura intraperitoneal e na medula óssea. Sua presença no fígado é pequena. Não está presente no plasma e somente entra no mecanismo de coagulação após lesão tecidual. Com a formação de um complexo cálcio iônico VIIa-tromboplastina ( $\text{Ca}^{++} + \text{VIIa} + \text{TP}$ ), o fator VII altera sua molécula deixando exposto seu local ativo e, portanto, tendo a capacidade de ativar o fator X.

O complexo  $\text{Ca}^{++} + \text{VIIa} + \text{TP}$  ativa o fator X, assim como também o fator IX. O complexo tromboplastina-Xa pode também agir como protrombinase ativando diretamente a protrombina. O fator VII também pode ser ativado através dos fatores Xa, IXa e XIIa. Pelas interações dos fatores de coagulação vistos anteriormente, compreende-se a impossibilidade de se separar, "*in vivo*", o mecanismo como em intrínseco e extrínseco.

### **Sistema Comum**

Com a ativação do fator X, o mecanismo de coagulação passa a ser comum. O complexo formado pelo fator Xa-cálcio-FP3-Va ativará a protrombina em trombina e esta ativará o fibrinogênio em fibrina, dando origem ao coágulo.

## Fibrinólise

O sistema fibrinolítico é responsável pela dissolução do coágulo de fibrina formado e depende da transformação do plasminogênio, uma pró-enzima, em plasmina, que é uma serinoprotease, capaz de promover a hidrólise da fibrina. Existem três vias de ativação da fibrinólise: a intrínseca, a extrínseca e a exógena. (ALKJAERSEG, FLATCHER, SHERRY, 1959).

A *via extrínseca* da ativação do plasminogênio depende do ativador tissular do plasminogênio (t-PA), que é liberado pelas células endoteliais. Em situações especiais, como na presença do fator de necrose tumoral e processos inflamatórios, a fibrinólise pode ser ativada pela uroquinase (u-PA) (HINSBERG e cols., 1988).

Na *via intrínseca*, o plasminogênio é ativado pela calicreína plasmática. Na *via exógena*, a ativação ocorre pelo uso de substâncias injetadas no organismo, com finalidades terapêuticas, como a estreptoquinase, a uroquinase de cadeia única (scu-PA) e o ativador do plasminogênio recombinante (rt-PA), (BLOOM, 1990; MARTIN e cols., 1991).

O plasminogênio liga-se a fibrina e vai ser convertido em plasmina pelo ativador tissular do plasminogênio, que também está ligado à fibrina. A maior parte da plasmina gerada permanece ligada à fibrina. Algumas das moléculas de plasmina liberadas da fibrina são rapidamente inibidas pela alfa 2

antiplasmina, restringindo a ação proteolítica ao coágulo de fibrina (BLOOM, 1990).

A digestão seqüencial do fibrinogênio pela plasmina resulta nos fibrinopeptídeos A e B e nos fragmentos D e E, havendo os fragmentos X e Y como intermediários. A digestão do polímero estável de fibrina produz o complexo DXD/YY, o complexo YD/DY, o fragmento E e o dímero DD, que estão aumentados em pacientes com doença hepática. (KRUSKAL e cols., 1992).

Esses fragmentos são liberados do coágulo como produtos de degradação da fibrina (fibrinogênio) e alteram a coagulação: 1. ao se ligarem à trombina no sítio de ligação do fibrinogênio; 2. ao se ligarem ao coágulo de fibrina em formação, prejudicando seu crescimento e periodicidade, enfraquecendo sua estrutura; 3. induzem a formação de agregados plaquetários, aumentam a permeabilidade capilar e desorganizam o endotélio vascular.

### **Moduladores**

A proteína C é uma serino-protease, vitamina K dependente, que é rapidamente ativada pela trombina, ou fator X ativado, na presença da trombomodulina e cálcio (HOOGENDOORN e cols., 1991). A trombomodulina é uma glicoproteína de membrana, encontrada, primariamente, em células endoteliais, mas também em trofoblastos, células de músculo liso, e em cultura de vários tumores.

A proteína C ativada exerce uma potente ação anticoagulante, ao clivar o fator V ativado e o fator VIII ativado. Na presença do fator X ativado, a proteína C não atua sobre fator V ativado. A proteína C apresenta também uma ação profibrinolítica, ao inibir o inibidor do ativador do plasminogênio (WALKER & FAY, 1992).

A proteína C possui alguns inibidores, atualmente, identificados: Inibidor da proteína C, alfa 1 antitripsina e alfa 2 macroglobulina (HOOGENDOORN e cols., 1991).

O nível plasmático da proteína C apresenta-se diminuído em deficiências congênitas (GRIFFIN e cols., 1981; VALLA e cols., 1988), em presença de fator de necrose tumoral (NAWROTH & STERN, 1986) em recém-nascidos a termo, em hepatite crônica ativa, em cirrose hepática, em coagulação intravascular disseminada e cirurgias de neoplasias do trato gastrointestinal. Níveis plasmáticos baixos de proteína C, em associação com outros fatores, como por exemplo anti-coagulante lúpico, exacerbam os fenômenos tromboembólicos, (HARRINSON & ALPERIN, 1992; ARAV-BORGER, REIF, BUJANOVER, 1995). A elevação da proteína C é descrita em síndrome nefrótica (COSIO e cols., 1985; MEHLS e cols., 1987) e em neoplasia de próstata (OLIVEIRA e cols., 1991).

A proteína S é um fator vitamina K dependente, sintetizada em hepatócitos, células endoteliais, megacariócitos e células de Leydig, nos

testículos. Atua como co-fator da proteína C ativada em sua função inibidora do fator VIII ativado e V ativado. A influência da proteína S na ação profibrinolítica da proteína C ativada não está totalmente definida (WEINSTEIN & WALKER, 1991).

A proteína S apresenta-se, no plasma, sob duas formas; forma livre (40%) e forma ligada à proteína C4b, um inibidor do sistema complemento (60%). O C4b é uma proteína de fase aguda e pode aumentar até 400% em reações inflamatórias, o que pode levar a uma diminuição da forma livre da proteína S (MALM e cols., 1990).

Alguns estudos relatam nível elevado de proteína S total, porém com a forma livre diminuída, em proteinúria e em neoplasia de próstata (ROMAN e cols., 1993). A proteína S total acha-se diminuída na gravidez e nas deficiências congênitas (COMP, 1986).

A antitrombina III inibe as enzimas da classe serino-proteases, que são a trombina, fator X, fator IX e fator XI ativados. A antitrombina III liga-se fracamente a estas moléculas, porém, na presença de heparina, essa ação é altamente potencializada.

O endotélio vascular possui substâncias semelhantes à heparina em sua superfície, que teriam um papel fisiológico na atuação da antitrombina III (MOUREY e cols., 1990; KAPLAN, 1991).

O co-fator II da heparina é um elemento da família das serpinas, com estrutura homóloga a antitrombina III. Forma um complexo inativo 1:1 com a trombina e não tem ação importante sobre o fator X ativado. É discutível se a deficiência de co-fator II da heparina leva a fenômenos trombóticos. Seu nível está reduzido na cirrose hepática, na coagulação intravascular disseminada e na infância (BLOOM, 1990).

A alfa 2 macroglobulina é uma protease de largo espectro de ligação protéica, como as serinas, cisteína, aspartato e as metalo classe. Interfere na atividade coagulante da trombina, com a qual forma um complexo irreversível. O complexo alfa 2 macroglobulina, com a trombina, é retirado rapidamente da circulação sanguínea. Esta ligação é responsável por 1/4 da inativação da trombina no plasma normal. A alfa 2 macroglobulina forma complexos com a tripsina, plasmina e com a calicreína plasmática. Acha-se reduzida em deficiências congênitas, em doença hepática grave, na hiperfibrinólise e na coagulação intravascular disseminada. Encontra-se elevada na infância, na síndrome nefrótica, na gravidez, com o uso de anticoncepcional oral e nos pacientes com neoplasia gastrointestinal avançada (ROEISE e cols., 1990).

O C1 inibidor é uma proteína plasmática constituída de uma cadeia simples de aminoácidos. Esta presente nos grânulos alfa das plaquetas e sua liberação ocorre por exposição ao colágeno ou trombina. É o principal inibidor da calicreína plasmática e do fator XII ativado e inibe também o fator XI ativado.

C1 inibidor e alfa 2 macroglobulina são os principais inibidores da fase de contato da coagulação (NUIJENS e cols., 1987).

A alfa 1 antitripsina é um inibidor da trombina e calicreína plasmática e fator X ativado. Esta enzima parece ser a maior responsável pela inibição do fator XI ativado no plasma (COMP, 1986).

O ativador do plasminogênio é encontrado sob duas formas: ativador tissular do plasminogênio (t-PA) e uroquinase ativador (uPA). Ambos têm função de transformar o plasminogênio em plasmina, que lisa a fibrina, dissolvendo o coágulo formado. O t-PA está presente tanto no tecido normal, como neoplásico; aumenta com a presença de trombina, exercícios, fator de necrose tumoral, estase venosa, vasopressina e a presença da fibrina potencializa sua ação. O tipo uroquinase é encontrado nos rins e urina, sendo que o uroquinase de cadeia simples pode ser encontrado no plasma (KWAAN, 1984; BELIN, 1993).

O inibidor do ativador do plasminogênio (PAI-1) é uma glicoproteína, que tem a propriedade de ser um inibidor rápido e específico do ativador tissular do plasminogênio de cadeia simples e dupla e do uroquinase de cadeia dupla. É o regulador primário do ativador do plasminogênio, sendo encontrado em plaquetas, células endoteliais e plasma. (KRUITHOF, 1988). Um segundo inibidor do plasminogênio (PAI-2) é encontrado na placenta, assim como em macrófagos, e é um inibidor de todos os ativadores do plasminogênio, incluindo o uroquinase de cadeia simples. O PAI encontra-se elevado em doenças renais,

arteriosclerose, infarto do miocárdio, infecção por gran negativo e presença de fator de necrose tumoral (HINSBERG e cols., 1988; LOSKUTOFF e cols., 1993).

A alfa 2 antiplasmina é o principal inibidor fisiológico da plasmina, com a qual forma um complexo, inibindo-a. A plasmina, ligada à fibrina, é menos acessível à alfa 2 antiplasmina que a plasmina livre.

O fator XIII ativado pode associar a alfa 2 antiplasmina à fibrina, protegendo o coágulo formado da lise (FRANCIS & MARDER, 1990).

O inibidor da via extrínseca da coagulação é produzido no fígado e endotélio formando um complexo quaternário com os fatores VII ativado, X ativado e o fator tissular. Não é uma proteína de fase aguda e sua liberação é influenciada pela heparina. A deficiência deste fator pode levar a fenômenos trombóticos (BLOOM, 1990).

Os distúrbios da hemostasia na criança são pouco estudados, existindo portanto, poucos dados disponíveis na literatura que possam esclarecer melhor tais distúrbios no grupo etário pediátrico.

O fígado desempenha um papel fundamental no controle da hemostasia, e seus distúrbios relacionados com hepatopatias são bem conhecidos (OLIVEIRA e cols., 1991). Entretanto as anomalias da hemostasia que ocorrem

em pacientes sem patologia hepática nem sempre têm sua etiologia e fisiopatologia bem esclarecidas.

ROBSON e cols. (1993) estudaram pacientes adultos portadores de hipertensão portal extra hepática, que possuíam testes de função hepática normais, bem como fígado com aparência histológica normal e sem distúrbios anteriores de coagulação. Tais pacientes mostraram anormalidades da coagulação que também estavam presentes em pacientes hepatopatas.

Em função dessas considerações nos propusemos a estudar alguns parâmetros da hemostasia em pacientes pediátricos portadores de TVP.

## **OBJETIVOS**

---

## **2. OBJETIVOS**

---

### **2.1. Objetivo Geral**

Estudar a hemostasia em pacientes pediátricos com TVP.

### **2.2. Objetivos Específicos**

- Determinar níveis plasmáticos de vários componentes da coagulação e da fibrinólise em crianças portadoras de trombose de veia porta.
- Esclarecer a etiologia dos distúrbios da coagulação quando presentes (CIVD, insuficiência hepática)
- Detectar possíveis deficiências congênitas ou adquiridas dos inibidores da coagulação, bem como a presença do Fator V de Leiden e do anticoagulante Lúpico na etiologia da TVP.

## **CASUÍSTICA E MÉTODOS**

## **3. CASUÍSTICA E MÉTODOS**

---

### **3.1. Casuística**

Foram incluídos neste estudo 20 pacientes e 61 crianças normais, divididos em três grupos.

*Grupo A:* composto por 20 pacientes portadores de Trombose de Veia Porta (TVP) acompanhadas no Ambulatório de Gastroenterologia Pediátrica do Hospital de Clínicas da UNICAMP. O diagnóstico foi estabelecido por intermédio do quadro clínico, da realização de ultra-som abdominal (QURESHI e cols., 1992) sendo que em um caso foi realizado esplenoportografia e de biópsia hepática quando indicada.

A TABELA 1 - pg. 20 - mostra as características desses pacientes quanto a identificação, sexo (8 masc. e 12 fem.), cor (15 brancos e 5 negróides), idade ao diagnóstico ( $X=76,7m - 2 \rightarrow 136$  meses) e idade no momento da coleta dos exames ( $X=111m - 16 \rightarrow 190$  meses). A TABELA 2 - pg. 21 - mostra o tamanho do baço e fígado, número de leucócitos de plaquetas e níveis de hemoglobina.

TABELA 1

**GRUPO A - PACIENTES PORTADORES DE TVP: SEXO, COR, IDADE  
NO MOMENTO DA COLETA E IDADE AO DIAGNÓSTICO**

<b>NOME</b>	<b>SEXO</b>	<b>COR</b>	<b>IDADE/COL (meses)</b>	<b>IDADE/DIAG (meses)</b>
<b>1. TMG</b>	F	B	16	2
<b>2. EC</b>	F	B	98	82
<b>3. RDA</b>	F	B	75	65
<b>4. CM</b>	M	N	190	120
<b>5. JVS</b>	F	B	112	99
<b>6. KRC</b>	F	B	151	58
<b>7. ESS</b>	F	N	133	122
<b>8. MRN</b>	F	B	88	29
<b>9. DCLS</b>	F	B	61	44
<b>10. RPS</b>	F	B	184	76
<b>11. RSFC</b>	M	B	162	136
<b>12. LCB</b>	F	B	103	20
<b>13. AJDS</b>	M	N	144	120
<b>14. MPF</b>	F	B	57	47
<b>15. LCM</b>	M	B	56	50
<b>16. JR</b>	F	B	114	67
<b>17. MS</b>	M	B	162	128
<b>18. MKD</b>	M	N	86	62
<b>19. BRA</b>	M	B	91	80
<b>20. LAM</b>	M	N	146	128

F - Feminino  
M - Masculino  
B - Branco  
N - Negroíde

x = 9 anos

x = 6 anos

TABELA 2

**GRUPO A - PACIENTES COM TVP: PRIMEIROS SINAIS E/OU SINTOMAS, TAMANHO DO BAÇO E FÍGADO, NÚMERO DE LEUCÓCITOS E PLAQUETAS E NÍVEL DE HEMOGLOBINA, AO DIAGNÓSTICO E NA COLETA**

PAC	SINTOM.	BAÇO (cm)		FIG. (cm)		LEUCOC. (mm <sup>3</sup> ).10 <sup>2</sup>		PLAQUETAS (mm <sup>3</sup> ).10 <sup>3</sup>		HB. (g/dl)	
1	hep/esp	6	3	3	4	2.4	3.4	82	37	12.4	6.9
2	hep/esp	14	12	4	red	5.1	3.5	60	36	13.5	12.3
3	hep/esp	10	10	10	9	4.9	6.0	97	80	12.5	12
4	hem/mel	2	4	red	3	4.1	3.9	250	42	9.5	13.7
5	hem/mel	2	4	1	2	4	2.8	96	37	11.2	11.7
6	hem/mel	4	2	2	1	5.4	5.6	230	156	13	11.9
7	hem	9	5	red	red	3.4	3.5	200	50	9.3	10.7
8	hem/mel	---	2	red	red	4.2	4.9	84	51	9.4	10.7
9	hem/mel	4	7	1	red	4.9	4.7	224	118	7.6	8.0
10	hem	3	4	1	2	5.1	4.9	138	124	9.9	14
11	hem/mel	---	4	red	red	1.9	2.2	47	43	11.5	11.5
12	hem	6	---	red	red	3.1	4.3	140	338	8.7	12.5
13	hep/esp	6	4	2.5	red	5	5	59	117	11.9	13.7
14	hem/mel	---	1	3	red	5.5	6	380	520	9.6	11.8
15	hep/esp	6	3	red	red	8	4.2	119	182	9.4	11.1
16	hem/mel	2	1	red	red	5.4	4.7	142	131	5.9	12.4
17	hem	2	---	red	red	12.4	10	118	130	8.8	9.5
18	hep/esp	8	5	red	red	6	3.7	60	58	11.8	9.7
19	hem/mel	6	8	red	1	7	7.6	82	85	12.8	13.8
20	hep/esp	4	---	1	red	6.5	6.8	232	230	11.7	14.2

hep - Hepatomegalia  
 esp - Esplenomegalia  
 hem - Hematêmese

mel - Melena  
 red - Reborde Costal Direito

Dezessete pacientes (85%) apresentavam esplenomegalia e 6 (30%) hepatomegalia (segundo os critérios de TRESOLDI, 1987). Os níveis de hemoglobina variaram de 5,9 g/dl a 13,5 g/dl ( $X = 10,6$  g/dl), o número de plaquetas variou de 43.000 a 380.000/  $\text{mm}^3$  ( $X = 143.000/\text{mm}^3$ ). A leucometria mostrou valores que variaram de 1.900 a 8.000/ $\text{mm}^3$  ( $X = 4.900/\text{mm}^3$ ).

Em 13 pacientes (65%) a primeira manifestação clínica foi hemorragia digestiva (hematêmese e/ou melena) nos outros sete, o diagnóstico de TVP foi estabelecido durante a investigação de hepatoesplenomegalia.

A TABELA 3 - pg. 25 - relaciona dados de biópsia hepática, sorologia e fatores de risco para TVP.

Como fatores predisponentes ou associados à TVP identificou-se: septicemia neonatal em 2 casos, cateterização umbilical em 1 caso, cirurgia por onfalocele rota com 1 dia de vida em 1 caso, blastomicose sul americana em 1 caso e um paciente apresentava história de internação aos três dias de vida, sem causa aparente. A sorologia foi positiva para citomegalovírus em 4 pacientes, 2 para hepatite A, 2 para vírus C e 1 para hepatite B.

Em nenhum paciente foi encontrado história familiar de fenômenos tromboembólicos.

**Grupo B:** composto por 20 crianças normais pareadas por sexo e idade com o grupo A. A TABELA 4 - pg. 26 - mostra a distribuição desse grupo quanto ao sexo (8 masc. e 12 fem.), cor (17 brancos e 3 negróides) e idade no momento da coleta ( $X=117,7m - 32 \rightarrow 189$  meses).

**Grupo C:** constituído por 41 crianças normais que junto ao grupo B serviram como valor de referência de normalidade do laboratório. A TABELA 5 - pg. 27 - mostra as características desses indivíduos quanto ao sexo (24 masc. e 17 fem.), cor (37 brancos e 3 negróides e 1 amarelo) e idade no momento da coleta dos exames ( $X=94,4m - 43 \rightarrow 177$  meses).

A TABELA 6 - pg. 28 - mostra os grupos em relação a sexo cor e idade no momento da coleta e idade ao diagnóstico.

Os grupos controles foram compostos por crianças normais selecionadas no ambulatório de Pediatria do Hospital Universitário São Francisco da Universidade São Francisco.

Os pacientes eram convidados a participar desse estudo e após o consentimento, os responsáveis que os acompanhavam assinavam um termo de “consentimento pós esclarecimento”.

A seleção desses pacientes foi feita durante um período de 4 meses, e foram incluídos no estudo as crianças que não apresentavam nenhuma queixa e que após o exame físico não apresentavam nenhuma anormalidade.

A coleta de sangue para execução desse estudo foi autorizada pela Comissão de Ética do Hospital Universitário São Francisco.

TABELA 3

**GRUPO A - PACIENTES COM TVP: BIÓPSIA HEPÁTICA,  
SOROLOGIA, FATORES DE RISCO**

PACIENTE	BIÓP. HEPAT. *	SOROLOGIA	FAT. RISCO
1	síndrome colestática	citomegalovírus / rubéola	sepsis com 28 dias de vida
2	normal	negativa	
3	fibrose peri-portal	citomegalovírus / hepatite A	
4	hepatite crônica ativa	hepatite B	
5	figado reacional	citomegalovírus / vírus C	sepsis com 6 d. de vida
6		negativa	
7		hepatite A	
8	necrose hepato-celular	negativa	
9		negativa	
10		negativa	
11	fibrose portal	negativa	
12	normal	vírus C	internação com 6 d. de vida
13		negativa	
14		negativa	
15		negativa	
16	normal	negativa	cirurgia por onfalocele rota
17	figado reacional	hepatite A	
18		negativa	cateterismo umbilical
19		negativa	
20		negativa	blastomicose

\* As biópsias hepáticas foram indicadas quando o paciente apresenta sorologia positiva para Hepatite C, quando havia hepatomegalia, ou quando durante o seguimento haviam alterações laboratoriais que sugeriam alteração da função hepática .

TABELA 4

**GRUPO B: GRUPO CONTROLE PAREADO EM IDADE E SEXO COM  
O GRUPO DE PACIENTES COM TVP.**

<b>NOME</b>	<b>SEXO</b>	<b>COR</b>	<b>IDAD/COL (meses)</b>	<b>NASCIM. (meses)</b>
1. AAPM	F	B	32	08/92
2. SLS	F	B	108	05/86
3. PS	F	N	77	12/87
4. JOP	M	B	54	11/79
5. FAL	F	B	119	06/85
6. VRC	F	B	159	02/82
7. DAL	F	B	135	02/84
8. GP	F	B	108	12/86
9. GDS	F	N	60	05/90
10. JMBL	F	B	189	08/79
11. MAS	M	B	77	12/88
12. MMDR	F	B	108	05/86
13. CGMD	M	B	142	03/83
14. ROS	F	B	56	01/90
15. JPL	M	B	58	03/90
16. PRF	F	N	129	08/84
17. FJA	M	B	162	11/81
18. LFF	M	B	92	09/87
19. ERC	M	B	112	01/86
20. OFM	M	B	147	02/83

F - Feminino  
M - Masculino  
B - Branco  
N - Negróide

TABELA 5

**GRUPO C: GRUPO CONTROLE COMPOSTO POR CRIANÇAS  
SELECIONADAS ALEATORIAMENTE**

<b>NOME</b>	<b>SEXO</b>	<b>COR</b>	<b>IDAD/COL (meses)</b>	<b>NASCIMENTO (meses)</b>
1. RGO	M	B	120	12/85
2. JC	F	B	122	10/85
3. AM	M	B	70	02/90
4. MGO	M	B	58	02/91
5. RCTC	F	B	43	05/92
6. MS	F	B	134	10/84
7. CP	M	N	160	08/82
8. GCM	F	B	159	09/82
9. ESRC	M	B	63	09/90
10. GHM	M	B	52	08/91
11. AAL	M	B	98	10/87
12. JFO	F	B	55	05/91
13. BCC	F	B	79	05/89
14. ACC	M	B	62	10/90
15. FGA	M	B	81	03/89
16. GCC	M	B	68	03/90
17. ACC	M	B	54	06/91
18. DL	M	N	135	10/84
19. JNS	F	B	110	10/86
20. WAA	M	B	52	08/91
21. EM	F	A	169	11/81
22. CBM	F	B	71	01/90
23. IG	M	B	107	01/87
24. ERA	M	B	61	11/90
25. MCB	M	B	83	11/88
26. MAS	M	B	164	03/82
27. JRL	M	B	54	01/91
28. CL	F	B	84	12/88
29. FHL	M	B	72	12/89
30. TSM	M	B	59	01/91
31. IC	F	B	119	03/86
32. WN	M	B	69	03/90
33. FCD	F	B	152	04/83
34. WHDS	M	B	176	04/80
35. RGS	F	B	78	06/89
36. CFB	F	B	68	04/90
37. WD	M	B	99	09/87
38. VD	F	B	126	06/85
39. TAS	M	B	70	02/89
40. DPS	F	N	125	07/85
41. SCBS	F	B	93	03/88

F - Feminino  
M - Masculino  
B - Branco  
N - Negróide  
A - Amarelo

X = 7 anos

TABELA 6

**RELAÇÃO DOS GRUPOS A, B, E C QUANTO AO SEXO, COR, IDADE NA COLETA E AO DIAGNÓSTICO**

Grupo	Cor			Sexo		Id/col. (meses)	Id/diag (meses)
	branco	negro	amarelo	mascul.	feminino		
A	15	5	0	8	12	111 (16 →190)	76.7 (2 →136)
B	17	3	0	8	12		
C	37	3	1	24	17		
<b>TOTAL</b>	69	11	1	40	41		

### 3.2. Coleta de Sangue

A coleta de sangue, para os exames de coagulação, foi feita com seringas plásticas, com um mínimo de estase, após os pacientes estarem em jejum de pelo menos 8 horas. O sangue foi transferido para tubos plásticos com citrato a 3.8% na proporção de 9:1. O plasma foi separado por centrifugação a 3.000 rpm, a 4°C por 15 minutos e estocado a - 80°C em alíquotas de 300µl. Nenhuma amostra foi armazenada por tempo superior a 6 meses.

A coleta de sangue para preparo do DNA foi feita com seringas plásticas, com EDTA a 10%, na proporção de 0,6ml para cada 20ml de sangue.

Em todas as amostras foi determinado: Tempo de protrombina (TP); Tempo de tromboplastina parcial ativado (TTPA); Tempo de trombina (TT); atividade fibrinolítica através do D-dímero, do tempo de lise da euglobulina (TLE) e área de lise em placa de fibrina (ALPF); fatores II, V, VII, IX, X, XII; fibrinogênio (FIBR); proteína C (Prot C); proteína S (Prot S); anticoagulante lúpico (AL); pesquisa de mutação no gene do fator V (fator V de Leiden) e pré-albumina (Pré-alb).

### 3.2. Métodos

*Tempo de protrombina - TP* - Foi realizado misturando-se 100 µl de plasma citratado com 100µl de tromboplastina de cérebro de coelho, segundo o método de um estágio. Os resultados foram expressos em RNI, calculados pela relação do tempo de coagulação do paciente em relação a um “pool” de plasmas de crianças normais, (SIRRIDGE & SHANNON, 1983) corrigidos de acordo com ISI da tromboplastina utilizada.

*Tempo de tromboplastina parcial ativado - TTPA* - Foi determinado em 100µl de plasma citratado, procedendo-se a ativação com 100µl de caulim e 100µl de cefalina preparada de cérebro de coelho. (PROCTOR & RAPAPORT, 1961). Os resultados foram expressos pelo R, calculado pela relação entre o tempo de coagulação do paciente e um “pool” de plasmas de crianças normais (SIRRIDGE & SHANNON, 1983).

*Tempo de trombina - TT* - O tempo de trombina foi realizado com 200µl de plasma citratado e 200µl de trombina humana, numa diluição que fornece um tempo de coagulação de 18 a 21 segundos para um “pool” de plasmas de indivíduos normais. Os resultados foram expressos pela relação entre o tempo obtido com o plasma em estudo e aquele obtido do “pool” de plasmas normais (SIRRIDGE e cols., 1983).

*Tempo de lise de Euglobulina - TLE* - Para sua realização foram misturados 200µl de plasma com 1,8ml de água destilada a 4 °C. Para precipitação da euglobulina adicionou-se 150µl de ácido acético 0,25% pH 5,9, mantendo-se por 30 minutos a 4°C. O precipitado foi separado por centrifugação a 3000 rpm, por 10 minutos a 4°C, desprezando-se o sobrenadante, por inversão. Para ressuspensão, foram acrescentados 200µl de tampão Tris Tween pH 7,5 e esta mistura foi, então, coagulada com uma solução de trombina (50U/ml) e cloreto de cálcio. Com o tubo mantido a 37°C, observou-se o tempo para a dissolução total do coágulo (ECAT, 1985). Os resultados foram expressos em minutos.

*Área de lise em placa de fibrina - ALPF* - Sua medida foi feita pelo método descrito por ASTRUP (1956), modificando-se a diluição do fibrinogênio, que foi realizada em PBS 1:20, conforme técnica desenvolvida no Departamento de Bioquímica da Escola Paulista de Medicina. A placa de fibrina foi preparada com fibrinogênio humano, utilizando-se uma solução 0,1% de proteína

coagulável. O precipitado foi preparado como para o TLE e ressuspenso com tampão barbital gelatina EDTA, ao volume original de plasma e foram aplicadas 3 alíquotas de 30µl em pontos equidistantes sobre a placa de fibrina. Utilizou-se uma placa de fibrina para cada indivíduo. As placas foram incubadas 17 horas a 37°C, realizando-se, após esse tempo, a leitura dos diâmetros pendiculares da área de lise. Os resultados foram expressos mm<sup>2</sup>.

***Pré Albumina - pré-alb*** - Foi determinada, no plasma, pelo método de imunoeletroforese “em rocket” (LAURELL, 1966). Os resultados foram expressos em porcentagem, em relação a um “pool” de plasmas de crianças normais.

***Proteína C - PROT C*** - Foi determinada, no plasma, por método de coagulação, utilizando-se um ativador isolado de veneno de cobra (Dade ® Protein Clotting Assay-Baxter Diagnostic Inc). Os resultados foram expressos em porcentagem, em relação a um “pool” de plasmas de crianças normais, (ESPANA e cols., 1986).

***Proteína S livre - PROT SL; Proteína S total - PROT ST*** - Foram determinadas, no plasma, pelo método de imunoeletroforese “em rocket”, sendo que a dosagem da proteína S livre foi realizada após precipitação com polietilenoglicol. Os resultados foram expressos em porcentagem, em relação a um “pool” de plasmas de crianças normais.

**Fibrinogênio - FIBR** - Para sua determinação foi utilizado o método funcional de Clauss modificado. Os resultados foram expressos em mg porcentagem, em relação a um “pool” de plasmas de crianças normais.

**Fatores: II, V, VII, IX, X, XII** - A determinação desses fatores foi realizada por método de coagulação, utilizando-se um substrato plasmático artificialmente deficiente nos respectivos fatores (SIRRIDGE e cols, 1983). Todas as curvas foram realizadas com um pool de plasmas de crianças normais. Os resultados foram expressos em porcentagem, em relação a um “pool” de plasmas de crianças normais.

**Fator V de Leiden** - A extração do DNA para pesquisa do Fator V de Leiden foi feita à partir de leucócitos do sangue periférico, segundo método de (SAMBROOK, FRITSCH, MANIATIS, 1989). A amplificação do exon 10 do gene do fator V foi feita mediante reação em cadeia de polimerase - PCR (SAIKI e cols., 1988) em uma mistura de 54 mM Tris-HCl, pH 8.8, 5.4mM MgCl<sub>2</sub>, 5.4M EDTA, 13.3mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 10% DMSO, 8mM<sup>+</sup> - mercaptoetanol, 0.4mg BSA/ml, 0.8mM de cada nucleosídeo trifosfato, 400ng de cada “primer sense” (5'-CTTGAAGGAAATGCCCCATTA-3') e “anti-sense” (5'-TGCCCAGTGCTTAACAAGACCA-3'), 500 ng de DNA genômico e 2U de Taq polimerase. A reação envolveu 30 ciclos de incubação a 94°C (1 min), 57°C (1 min) e 72°C (2 min), respectivamente.

Com a amplificação obteve-se um fragmento de 220 bp do gene do fator V. A pesquisa do fator V mutante foi feita por meio de digestão com MnlI e pelo SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism). A digestão de 5 - 10µl do produto da PCR foi realizada com 0.5U de MnlI por 20 horas a 37°C. Esta região do exon 10 do gene do fator V contém dois sítios de restrição para MnlI nos nucleotídeos 1637 e 1694. Após a digestão do gene normal do fator V (alelo 1691G), fragmentos de 116, 67 e 37 bp foram observados em gel de agarose a 2%. Quando o alelo mutante 1691A estava presente, o sítio de clivagem para MnlI é abolido, não ocorrendo assim a digestão dos fragmentos do DNA, e os fragmentos de 153 e 67 bp foram encontrados.

A análise pelo SSCP foi feita em um sistema semi-automático de eletroforese PhastSystem<sup>®</sup> (Pharmacia, Upsalla, Sweden). O produto da PCR foi diluído com um tampão carreador (95% formamida contendo 10 mM EDTA, 1:4), aquecido por 5 minutos e submetido à eletroforese em um gel homogêneo de poliacrilamida com faixas de agarose como tampão. A corrida eletroforética foi feita a 25 V, por 2 horas, a 15°C. As bandas de DNA foram visualizadas por intermédio de uma coloração em prata que envolvia vários banhos em ácido tricloroacético (5min a 20°C), glutaraldeído a 5% (5 min a 50°C), água (2 banhos de 2min a 50°C), AgNO<sub>3</sub> a 0.4% (8min a 40°C), água (2 banhos de 30s cada a 30°C), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a 2.5%, formaldeído 0.013% (4 min a 30°C) e ácido acético (2min a 50°C)

*D-dímero* - Foi determinado, no plasma, pelo método de aglutinação de partículas de látex que é um método de triagem (van BERGEN e cols., 1989; BONEU e cols., 1991), recobertas com um anticorpo monoclonal de rato anti D-dímero humano. A prova foi positiva com concentrações de D-dímero acima de 0,5 µg/ml.

*Anticoagulante Lúpico - AL* - A pesquisa do anticoagulante lúpico foi realizada por 2 métodos : pela técnica do tempo de coagulação ativado com caulim (MANNUCCI e cols., 1979) e pelo tempo de coagulação com veneno de víbora Russell (THIAGARAJAN, PENGO, SHAPIRO, 1986).

### **Análise Estatística**

A análise estatística dos dados foi realizada utilizando-se o programa Sigmastat Statistical Analysis System - Version 1.01.

Os grupos de variáveis que obedeciam à distribuição normal (análise feita pelo método de Kolmogorov-Smirnov) foram analisados pelo teste “t” de Student para os dados pareados e não pareados. Os grupos que não tinham distribuição normal foram analisados pelo teste não paramétrico de Wilcoxon.

Os grupos que não tiveram distribuição normal foram impressos em letra itálica.

A análise para correlacionar duas variáveis quantitativas distintas foi feita através do coeficiente de correlação de Pearson.

## **RESULTADOS**

---

## **4. RESULTADOS**

---

### **4.1. Avaliação dos Parâmetros da Coagulação**

#### ***4.1.1. Tempo de Tromboplastina Parcial Ativado***

Não houve diferença significativa do TTPA dos pacientes portadores de TVP quando comparados com o grupo controle pareado ( $t=0.33$ ,  $p=0.24$ ), bem como quando comparado com o conjunto de crianças normais ( $t=1.16$ ,  $p=0.24$ )

Também não houve diferença entre os grupos controles (B e C) para este parâmetro analisado ( $p = 0,12$ ).

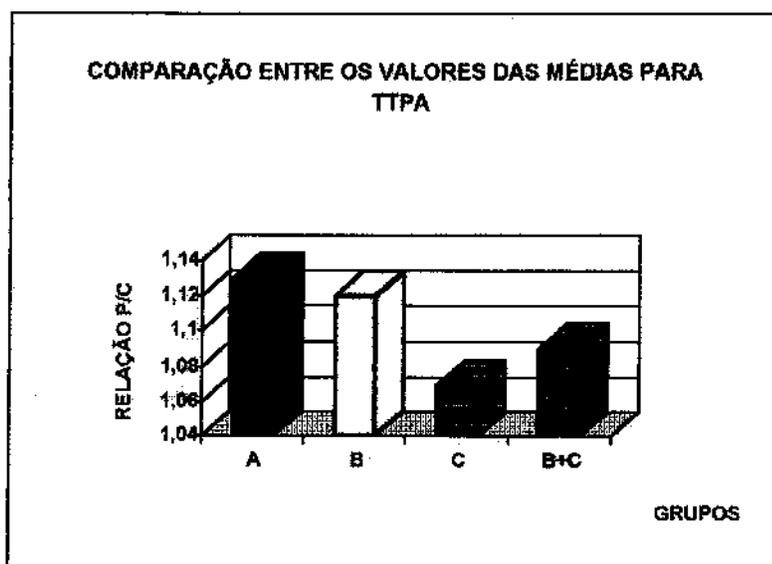
A TABELA 7, os GRÁFICOS 1 e 2 - pg. 36 - e o APÊNDICE 1 - pg. 79 - mostram esses resultados.

**TABELA 7 - TEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL ATIVADO  
TTPA**

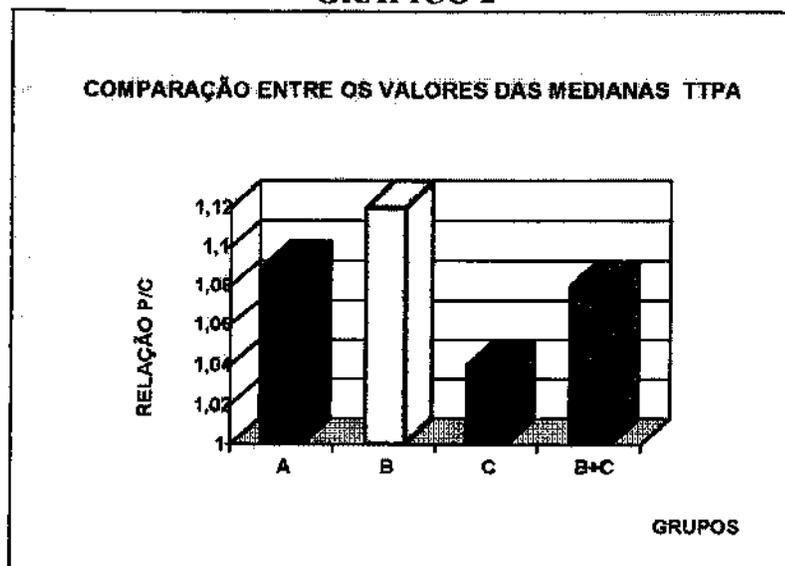
	A	B	C	B+C
<b>MEDIA</b>	1.13	1.12	1.07	1.09
<b>MEDIANA</b>	1.09	1.12	1.04	1.08
<b>DESV.PADR.</b>	0.17	0.09	0.12	0.11

A/B - t = 0.33, p = 0.24; B/C - p = 0,12; A/B+C - t = 1.16, p = 0.24

**GRÁFICO 1**



**GRÁFICO 2**



#### *4.1.2. Tempo de Protrombina*

O tempo de protrombina mostrou-se significativamente aumentado no grupo de pacientes quando comparado com o grupo controle pareado ( $z=3.55, p<0.001$ ). O mesmo comportamento se observa quando o grupo de portadores de TVP é comparado com o total das crianças normais ( $z=2.81, p=0.005$ ). Os grupos B e C quando comparados, não apresentaram diferença significativa ( $z=0.56, p=0.57$ ).

A TABELA 8, o GRÁFICO 3 - pg. 38 - e o APÊNDICE 2 - pg. 80 - mostram esses valores.

#### *4.1.3. Tempo de Trombina*

O tempo de trombina nos portadores de TVP mostrou-se aumentado em relação ao grupo controle pareado ( $t=3.09, p=0.004$ ), entretanto não houve diferença quando se comparou o grupo de doentes com o total de crianças normais estudadas ( $z=1.13, p=0.25$ ). Também não houve diferença quando se comparou, entre si, os grupos de crianças normais ( $z=1.26, p=0.20$ ).

Esses dados estão relacionados na TABELA 9, GRÁFICOS 4 e 5 - pg. 39 - e APÊNDICE 3 - pg. 81.

TABELA 8 - TEMPO DE PROTROMBINA - TP

	A	B	C	B+C
MEDIANA	1.24	1.03	1.04	1.04
DESV. PADR.	0.22	0.08	0.08	0.08

A/B -  $z = 3.55$ ,  $p < 0.001$ ; B/C -  $z = 0.56$ ,  $p = 0.57$ ; A/B+C -  $z = 2.81$ ,  $p = 0.005$

GRÁFICO 3

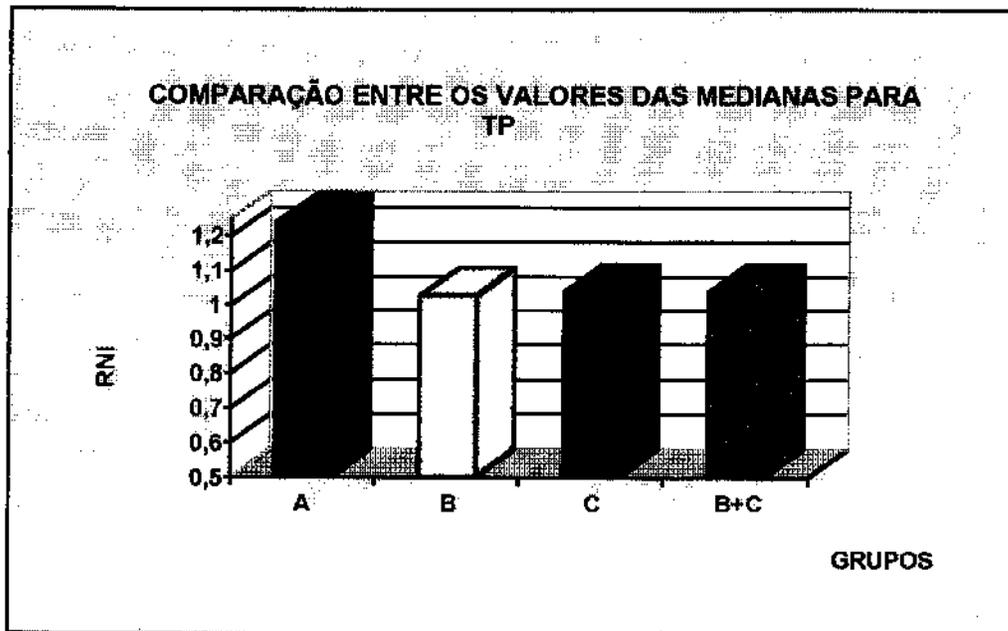


TABELA 9 - TEMPO DE TROMBINA - TT

	A	B	C	B+C
<b>MEDIA</b>	1.10	1.02	1.1	1.07
<b>MEDIANA</b>	1.12	1.02	1.04	1.04
<b>DESV.PADR.</b>	0.08	0.07	0.15	0.13

A/B -  $t = 3.09$ ,  $p = 0.004$ ; B/C -  $z = 1.26$ ,  $p = 0.20$ ; A/B+C -  $z = 1.13$ ,  $p = 0.25$

GRÁFICO 4

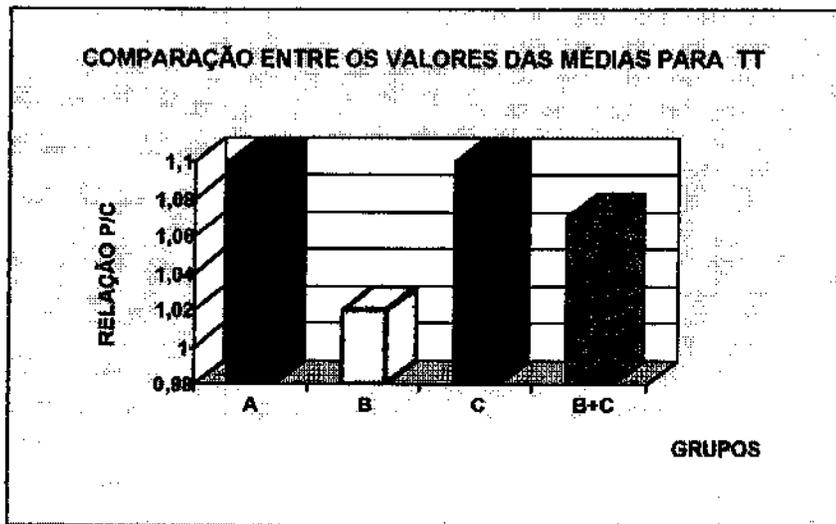
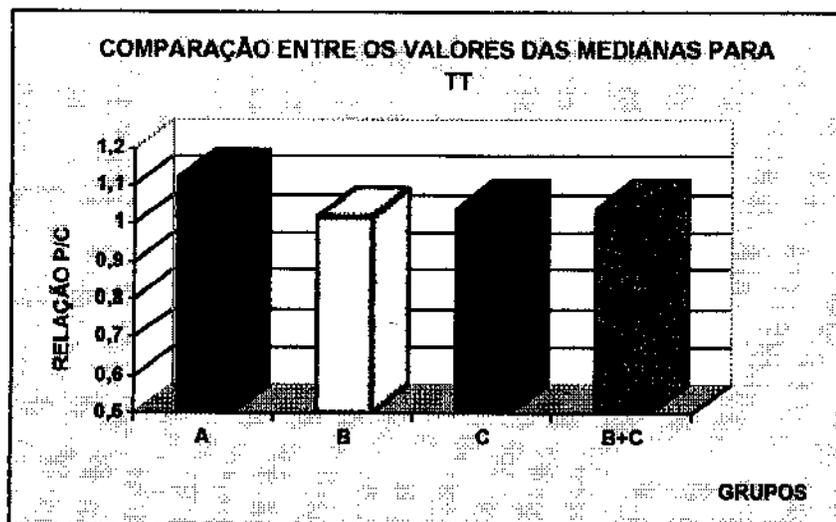


GRÁFICO 5



## 4.2. Avaliação dos fatores de coagulação

### 4.2.1. Fator II

O fator II estava diminuído nos pacientes com TVP, tanto em relação ao grupo controle pareado ( $t = -3.36$ ,  $p = 0.002$ ) como ao conjunto de crianças normais ( $t = 3.65$ ,  $p < 0.001$ ). O mesmo não aconteceu ao confrontarmos os grupos normais ( $t = 0.9$ ,  $p = 0.37$ ).

Esses valores estão assinalados na TABELA 10, GRÁFICO 6 - pg. 41 - e APÊNDICE 4 - pg. 82.

### 4.2.2. Fator V

Houve uma diminuição significativa do fator V quando o grupo de pacientes foi comparado ao grupo normal pareado ( $t = -3.94$ ,  $p < 0.001$ ) e com os grupos que compõem o conjunto de crianças normais ( $t = 4.1$ ,  $p < 0.001$ ).

Não houve diferença entre os grupos B e C ( $z = 1.06$ ,  $p = 0.28$ ).

A TABELA 11, os GRÁFICOS 7 e 8 - pg. 42 - e o APÊNDICE 5 - pg. 83 - mostram esses dados.

TABELA 10 - FATOR II

	A	B	C	B+C
<b>MEDIA</b>	83.45	99.42	95,82	97
<b>DESV.PADR.</b>	13.8	16.15	13.79	14.57

A/B -  $t = -3.36$ ,  $p = 0.002$ ; B/C -  $t = 0.9$ ,  $p = 0.37$ ; A/B+C -  $t = 3.65$ ,  $p < 0.001$

GRÁFICO 6

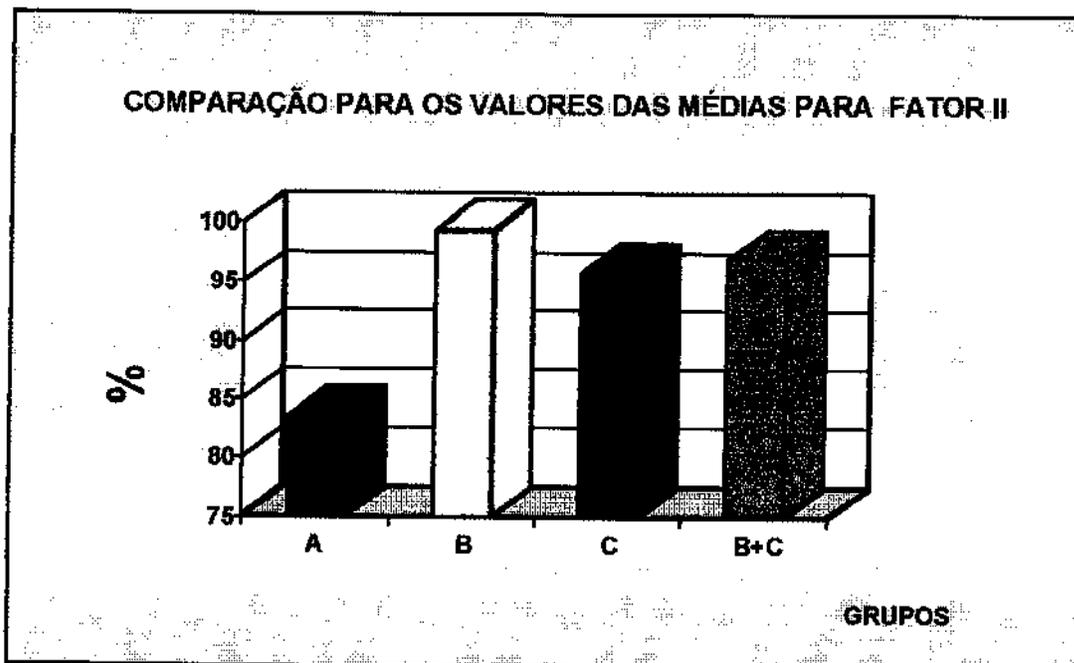


TABELA 11 - FATOR V

	A	B	C	B+C
<b>MEDIA</b>	71.47	95.2	94.09	94.45
<b>MEDIANA</b>	74	99.5	90	90
<b>DESV.PADR.</b>	17.83	19.62	23.69	22.28

A/B -  $t = -3.94$ ,  $p < 0.001$ ; B/C -  $z = 1.06$ ,  $p = 0.28$ ; A/B+C -  $t = 4,1$ ,  $p < 0.001$

GRÁFICO 7

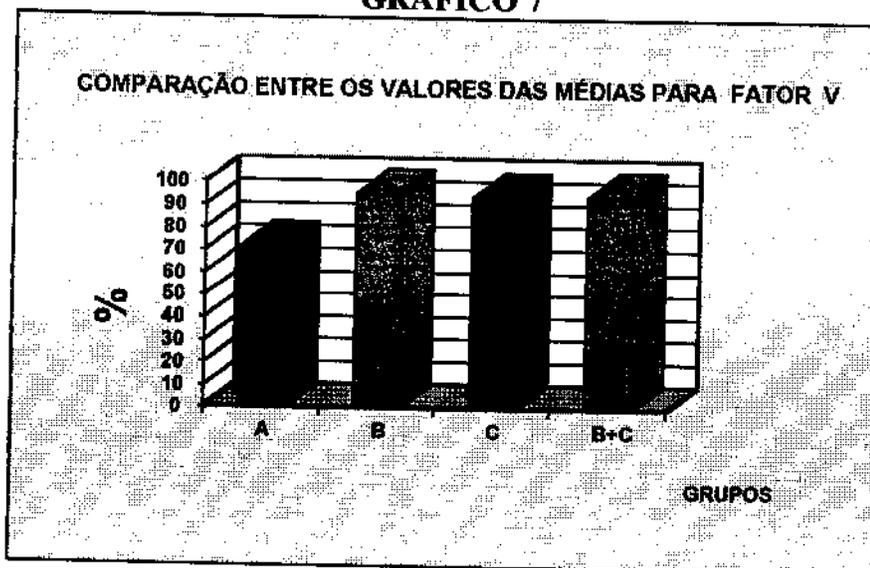
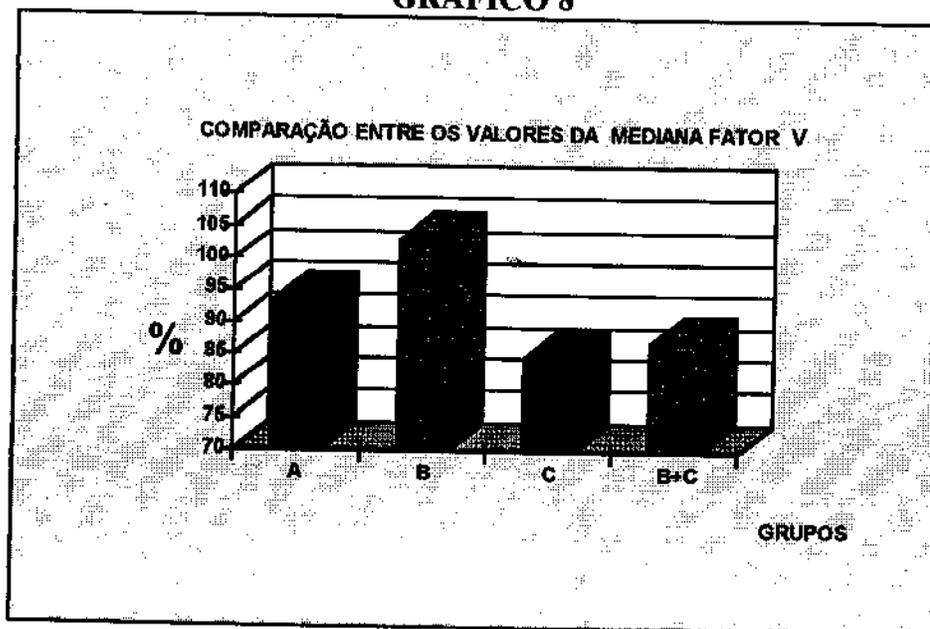


GRÁFICO 8



#### *4.2.3. Fator VII*

Em relação ao fator VII, não houve diferença entre o grupo de pacientes e o grupo normal pareado ( $z=0.06$ ,  $p=0.95$ ), assim como não houve diferença quando o grupo de pacientes foi comparado com a somatória dos grupos B e C ( $z=1.49$ ,  $p=0.13$ ). Entretanto, ao compararmos os grupos de indivíduos normais, notou-se diferença estaticamente significativa ( $z=2.01$ ,  $p=0.04$ ).

Esses valores estão anotados na TABELA 12, GRÁFICO 9 - pg. 44 - e APÊNDICE 6 - pg. 84.

#### *4.2.4. Fator IX*

O fator IX mostrou um comportamento semelhante entre os vários grupos quando comparados entre si, não havendo diferença entre os pacientes e o conjunto de indivíduos normais.

A TABELA 13, os GRÁFICOS 10 e 11 - pg. 45 - e o APÊNDICE 7 - pg. 85 - mostram esses valores.

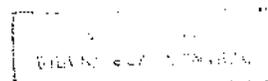


TABELA 12. - FATOR VII

	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>C</i>	<i>B+C</i>
<b>MEDIA</b>	106.95	106.07	92.91	97.45
<b>MEDIANA</b>	93.5	103	84.5	87
<b>DESV.PADR.</b>	35.57	19.59	28.12	26.10

A/B -  $z = 0.06$ ,  $p = 0.95$ ; B/C -  $z = 2.01$ ,  $p = 0.04$ ; A/B+C -  $z = 1.49$ ,  $p = 0.13$

GRÁFICO 9

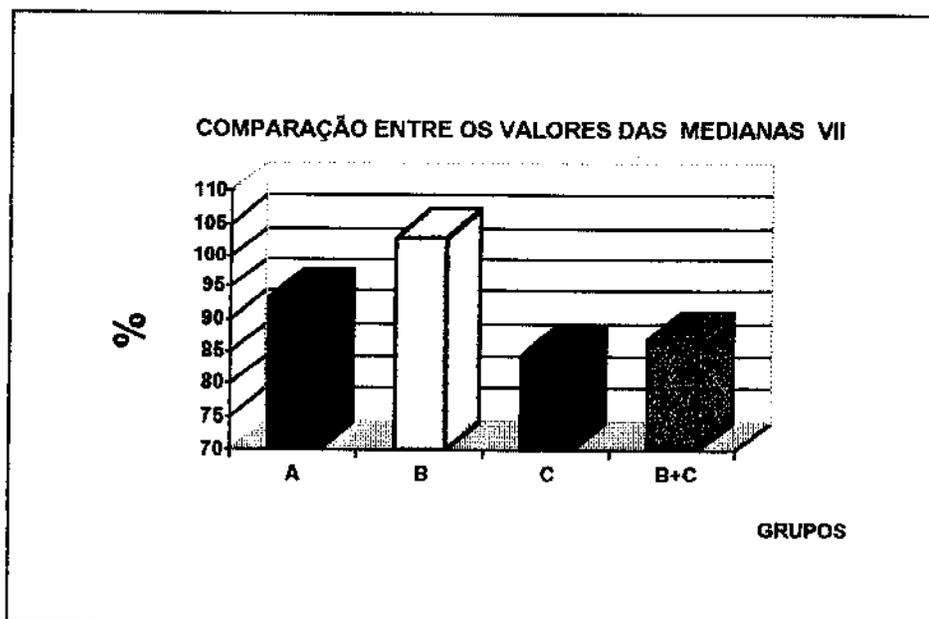


TABELA 13 - FATOR IX

	A	B	C	B+C
MEDIA	101.07	118.1	101.99	107.27
MEDIANA	92.2	110	98	101
DESV.PADR.	37.26	38.70	32.62	35.24

A/B -  $z = 1.64$ ,  $p = 0.10$ ; B/C -  $t = 1.70$ ,  $p = 0.09$ ; A/B+C -  $z = 1.55$ ,  $p = 0.12$

GRÁFICO 10

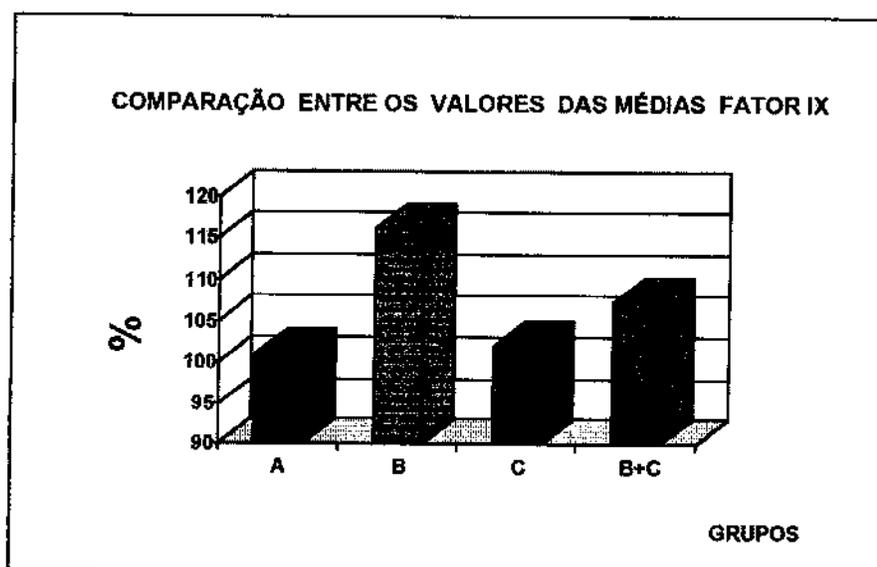
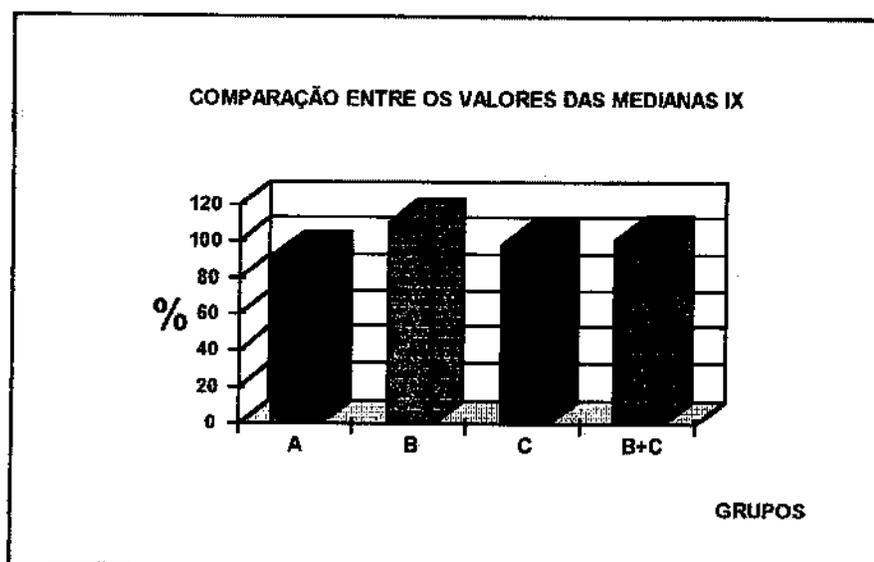


GRÁFICO 11



#### 4.2.5. Fator X

Observou-se em relação ao fator X o mesmo padrão de comportamento do fator VII, isto é, não houve diferença entre o grupo de pacientes e os grupos de crianças normais ( $t = -0.78$ ,  $p = 0.43$ ). Já entre os grupos de crianças normais (B e C), houve diferença estatisticamente significativa ( $t = 2.47$ ,  $p = 0.01$ ). Valores assinalados na TABELA 14, GRÁFICO 12 - pg. 47 - e APÊNDICE 8 - pg. 86.

#### 4.2.6. Fator XII

O nível plasmático do fator XII não mostrou variação significativa quando se comparou o grupo de portadores de TVP com o grupo controle pareado ( $z = 0.99$ ,  $p = 0.32$ ) e com o grupo de crianças normais não pareadas. Este fato também ocorre ao se comparar os dois grupos controle entre si. ( $t = 0.40$ ,  $p = 0.68$ ).

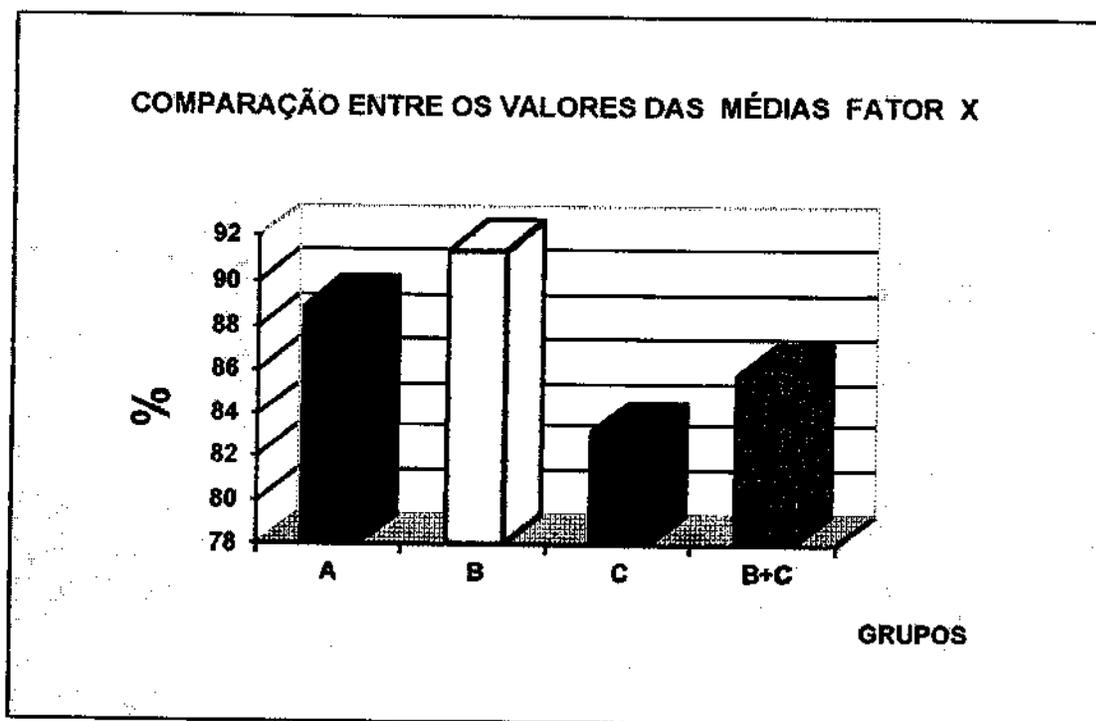
Os dados estatísticos estão anotados na TABELA 15, GRÁFICOS 13 e 14 - pg. 48 - e APÊNDICE 9 - pg. 87.

TABELA 14 - FATOR X

	A	B	C	B+C
<b>MEDIA</b>	88.82	91.35	83.15	85.84
<b>DESV.PADR.</b>	19.65	15.29	10.34	12.66

A/B -  $t = 0.45$ ,  $p = 0.65$ ; B/C -  $t = 2.47$ ,  $p = 0.01$ ; A/B+C -  $t = -0.78$ ,  $p = 0.43$

GRÁFICO 12

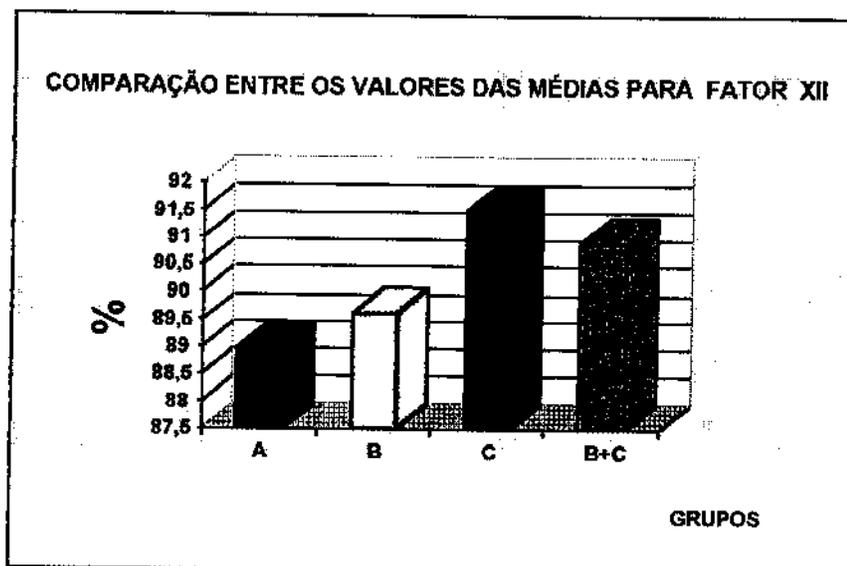


**TABELA 15 - FATOR XII**

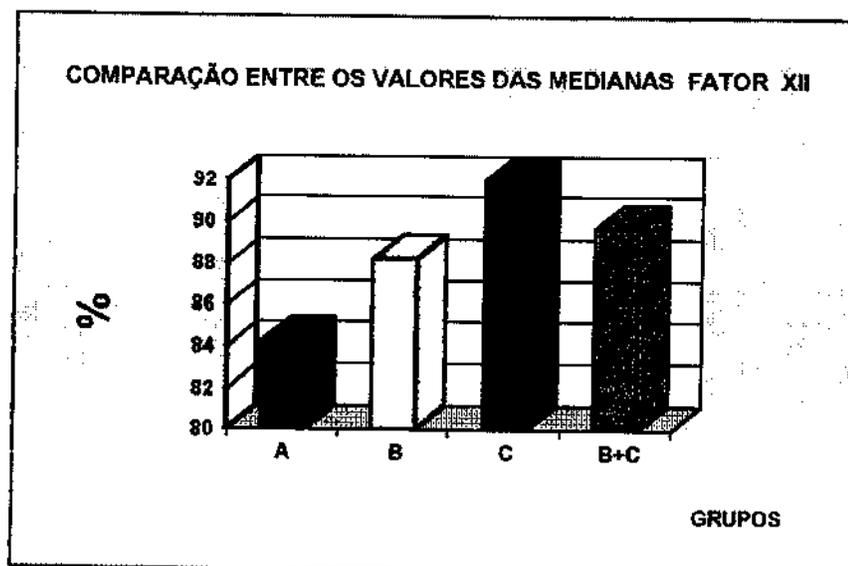
	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>B+C</b>
<b>MEDIA</b>	88.97	89.63	91.51	90.89
<b>MEDIANA</b>	84.25	88.25	92	89,7
<b>DESV.PADR.</b>	37.51	16.46	17.50	17.05

A/B - z = 0.98, p = 0.32; B/C - t = 0.40, p = 0.68; A/B+C - p = 0,75

**GRÁFICO 13**



**GRÁFICO 14**



### **4.3. Avaliação da Atividade Fibrinolítica**

#### *4.3.1. A Área de Lise de em Placa de Fibrina*

A análise estatística da área de lise em placa de fibrina mostrou que houve diferença quando foi comparado o grupo de doentes com o grupo controle pareado ( $t=8.29$ ,  $p<0.001$ ) e também quando foram comparados os pacientes com o conjunto de crianças normais ( $z = 2.94$ ,  $p = 0,003$ ).

A comparação entre os grupos controles também mostrou diferença significativa ( $t=3.05$ ,  $p=0.003$ ).

Valores relacionados na TABELA 16, GRÁFICOS 15 e 16 - pg. 50 - e APÊNDICE 10 - pg. 88.

#### *4.3.2. Tempo de Lise de Euglobulina*

O TLE mostrou-se diminuído nos pacientes portadores de TVP quando comparado ao conjunto de crianças normais ( $z=1.97$ ,  $p=0.048$ ). O mesmo não aconteceu quando comparamos o grupo de pacientes com o grupo controle pareado ( $z=1.02$ ,  $p=0.30$ ) e não pareado e os grupos controles entre si ( $z= -0.01$ ,  $p=0.98$ ).

Dados anotados na TABELA 17, GRÁFICO 17 - pg. 51 - e APÊNDICE 11 - pg. 89.

TABELA 16 - ÁREA DE LISE EM PLACA DE FIBRINA - ALPF

	A	B	C	B+C
<b>MEDIA</b>	240.72	75.95	116.06	102.46
<b>MEDIANA</b>	240	64	108	90
<b>DESV.PADR.</b>	79.43	38.02	51.88	51.02

A/B -  $t = 8.29$ ,  $p < 0.001$ ; B/C -  $t = 3.05$ ,  $p = 0.003$ ; A/B+C -  $z = 2.94$ ,  $p = 0.003$

GRÁFICO 15

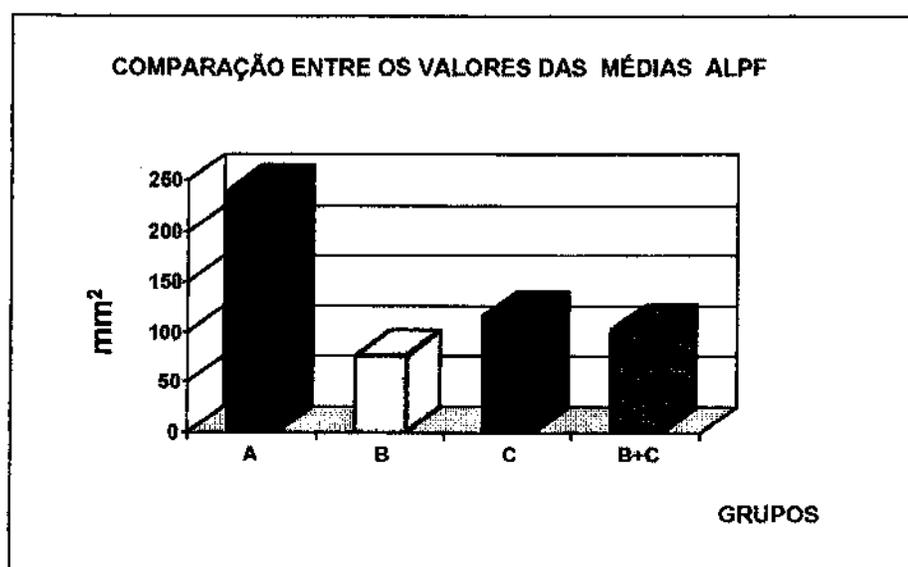


GRÁFICO 16

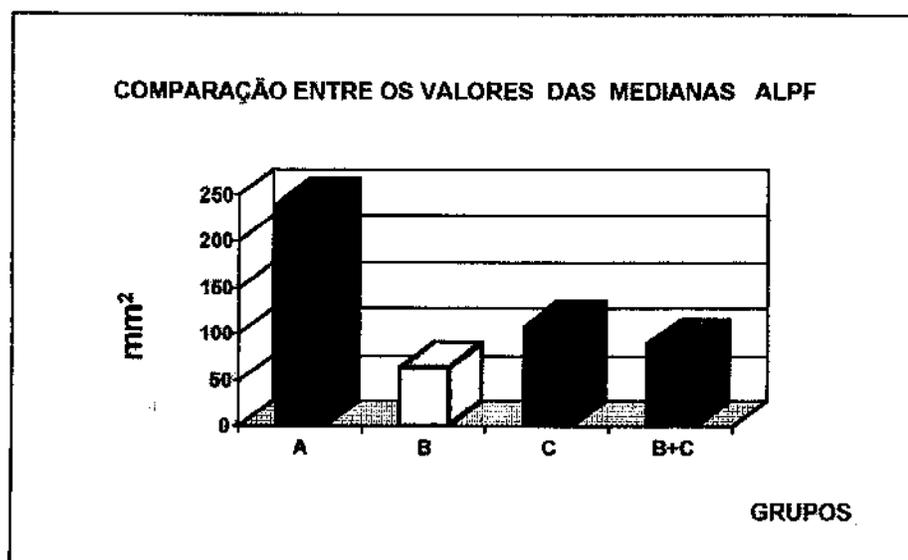
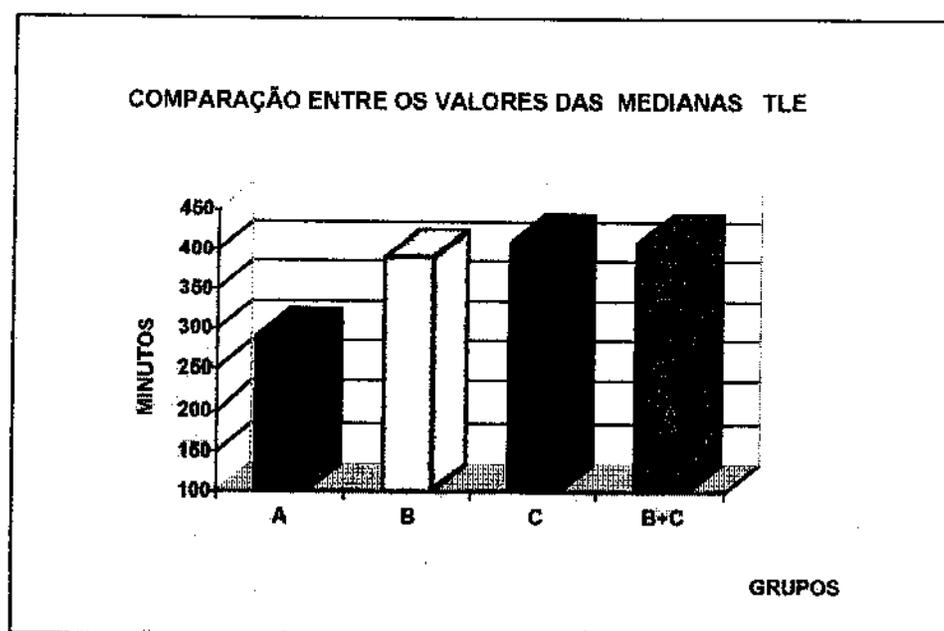


TABELA 17 - TEMPO DE LISE DE EUGLOBULINA - TLE

	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>C</i>	<i>B+C</i>
<b>MEDIANA</b>	290	390	410	410
<b>DESV.PADR.</b>	211.80	146.98	74.95	102.89

$A/B - z = 1.02, p = 0.30$ ;  $B/C - z = -0.01, p = 0.98$ ;  $A/B+C - z = 1.97, p = 0.048$

GRÁFICO 17



### **4.3.3. Fibrinogênio**

O fibrinogênio estava diminuído nos pacientes, tanto quando comparado com o grupo controle pareado ( $z=1.99$ ,  $p=0.04$ ), quando comparado com o total de crianças normais ( $z=3.34$ ,  $p<0.001$ ). Também houve diferença estatística entre os grupos de indivíduos normais quando comparados entre si ( $t=-3.12$ ,  $p=0.003$ ).

Valores assinalados na TABELA 18, GRÁFICOS 18 e 19 - pg. 53 - e APÊNDICE 12 - pg. 90.

## **4.4. Avaliação dos Inibidores da Coagulação**

### **4.4.1. Proteína C**

A análise estatística dos níveis plasmáticos de PROT C não mostrou diferença significativa quando se comparou o grupo de portadores de TVP com o grupo controle pareado ( $z=0.18$ ,  $p=0.85$ ) e com os grupos de crianças normais ( $z=2.44$ ,  $p=0.01$ ). Porém houve diferença entre os grupos normais, isto é, grupo B e grupo C ( $t=2.15$ ,  $p=0.03$ ).

A TABELA 19, os GRÁFICOS 20 e 21 - pg. 54 - e o APÊNDICE 13 - pg. 91 - apontam esses valores.

**TABELA 18 - FIBRINOGÊNIO - FIBR**

	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>C</i>	<i>B+C</i>
<b>MEDIA</b>	200.77	245.5	298.25	280.95
<b>MEDIANA</b>	189.5	241.25	286	278
<b>DESV.PADR.</b>	61.94	69.21	58.18	66.31

A/B -  $z = 1.99$ ,  $p = 0.04$ ; B/C -  $t = -3.12$ ,  $p = 0.003$ ; A/B+C -  $z = 3.34$ ,  $p < 0.001$

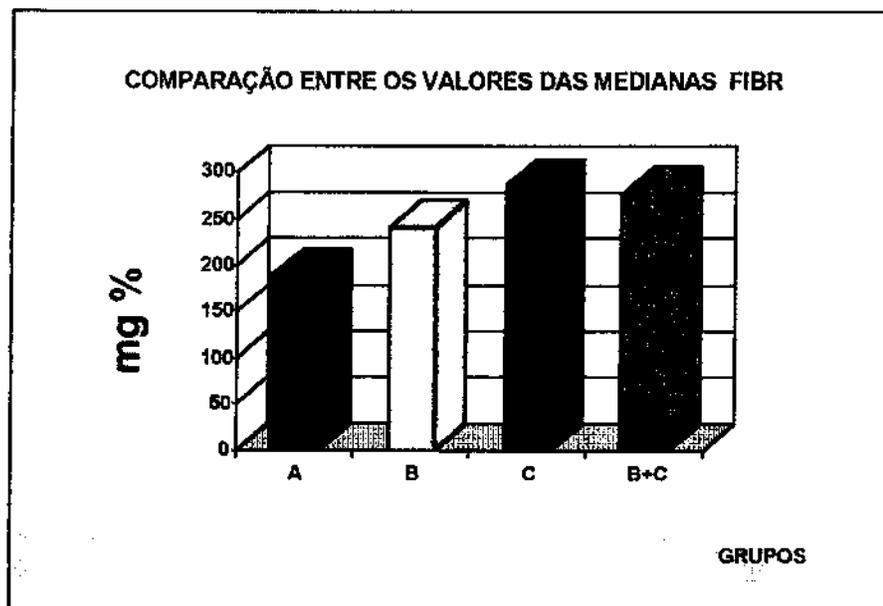
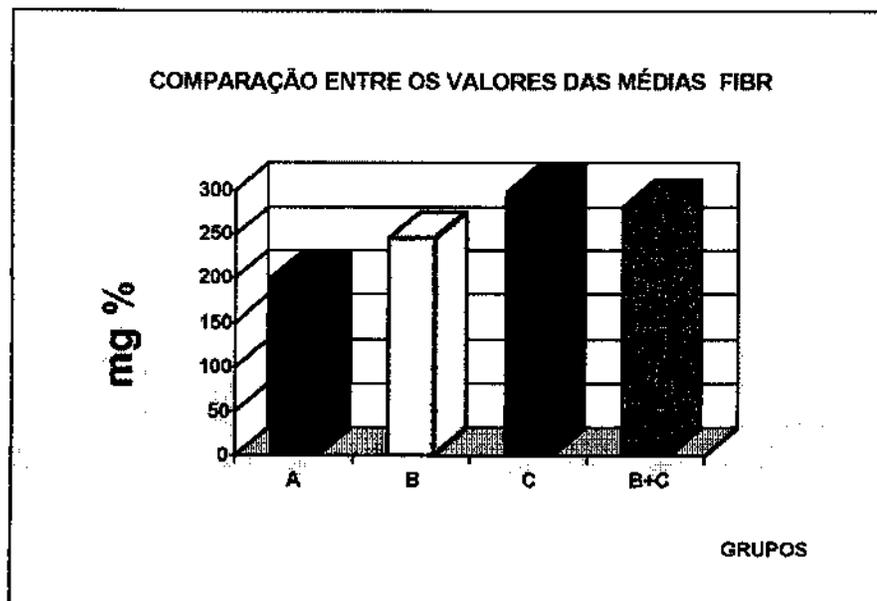
**GRÁFICO 18****GRÁFICO 19**

TABELA 19 - PROTEINA C - PROT C

	A	B	C	B+C
<b>MEDIA</b>	100.8	101	113.24	109.23
<b>MEDIANA</b>	90	96	115	110
<b>DESV.PADR.</b>	31.04	24.93	18.62	21.48

A/B -  $z = 0.18, p = 0.85$ ; B/C -  $t = 2.15, p = 0.03$ ; A/B+C -  $z = 2.44, p = 0.01$

GRÁFICO 20

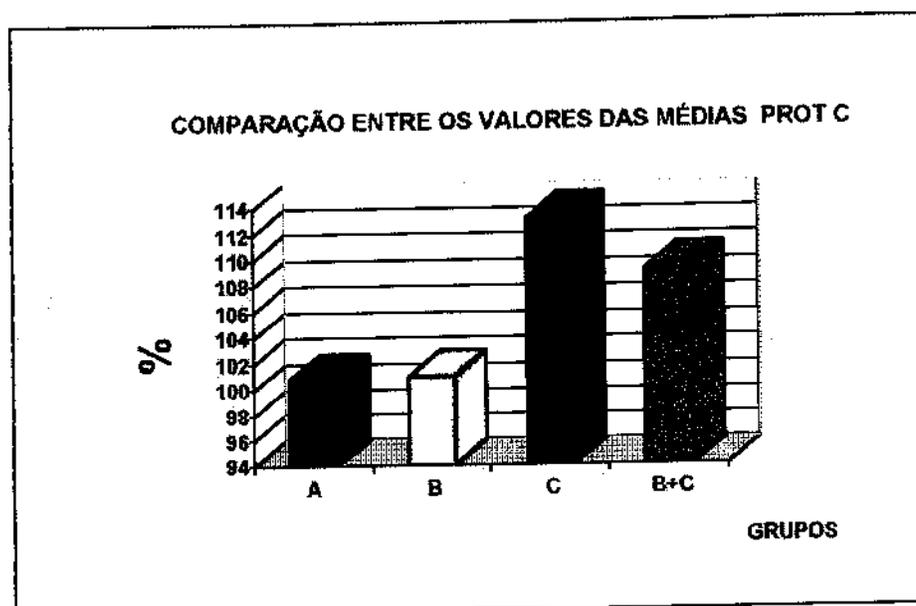
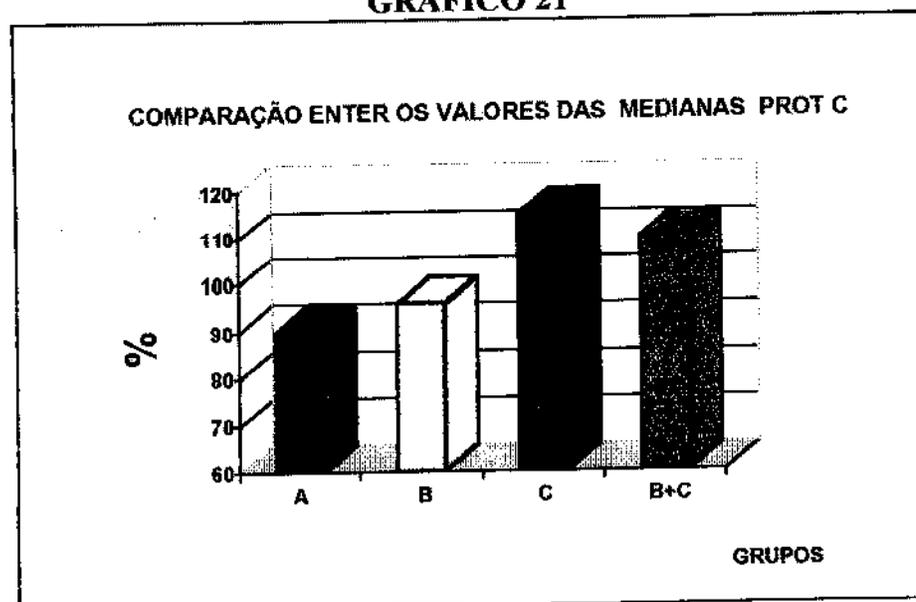


GRÁFICO 21



#### ***4.4.2. Proteína S Total***

Os níveis de PROT S T estiveram aumentados nos pacientes com TVP de maneira significativa quando comparados aos níveis de PROT ST dos grupos controles, seja com o grupo pareado ( $p < 0.001$ ) ou com o conjunto das crianças normais ( $z = 0.68$ ,  $p = 0.49$ ). O mesmo aconteceu quando esses grupos foram comparados entre si ( $z = 1.97$ ,  $p = 0.04$ ).

Os valores estatísticos estão anotados na TABELA 20, no GRÁFICO 22 - pg. 56 - e no APÊNDICE 14 - pg. 92.

#### ***4.4.3. Proteína S Livre***

Os níveis de PROT S L estiveram aumentados no grupo de doentes quando comparado com o grupo controle pareado(), porém não houve diferença quando comparado com o conjunto das crianças normais ( $t = 2.25$ ,  $p = 0.02$ ). Os grupos controles quando comparados entre si, mostraram diferença estatisticamente significativa ( $z = 3.44$ ,  $p < 0.001$ ).

Dados assinalados na TABELA 21, GRÁFICO 23 - pg. 57 - e APÊNDICE 15 - pg. 93.

**TABELA 20 - PROTEINA S TOTAL - PROT ST**

	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>B+C</b>
<b>MEDIA</b>	99.5	81.8	91.22	88.13
<b>MEDIANA</b>	100	82	91	90
<b>DESV.PADR.</b>	15.06	8.48	13.57	12.86

A/B -  $p < 0.001$ ; B/C -  $z = 1.97, p = 0.04$ ; A/B+C -  $z = 0.68, p = 0.49$

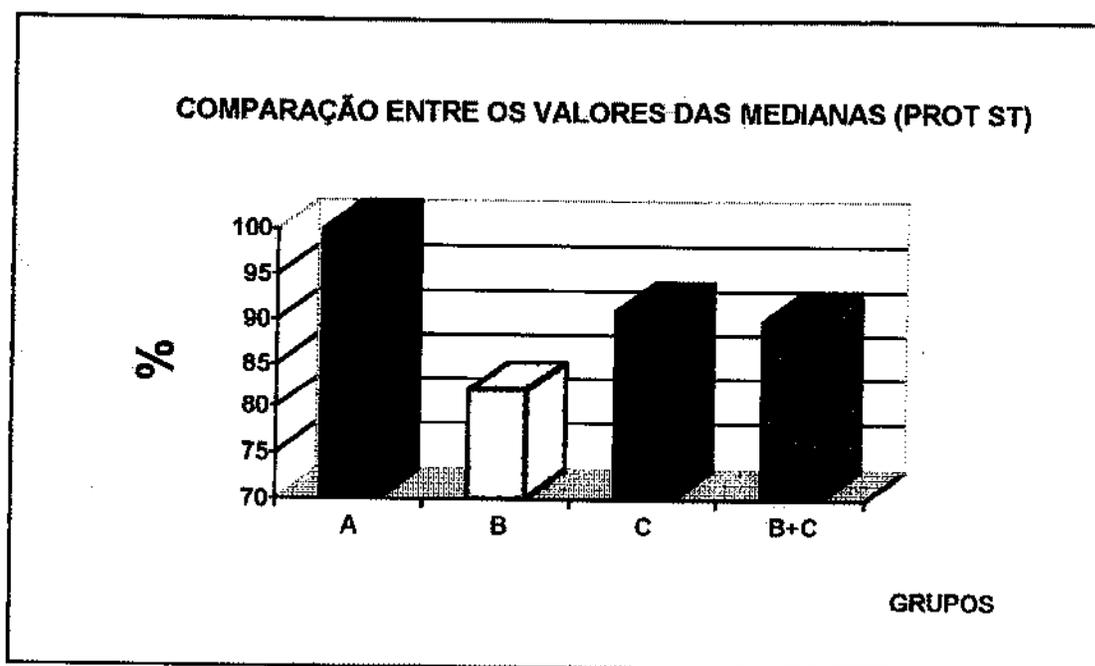
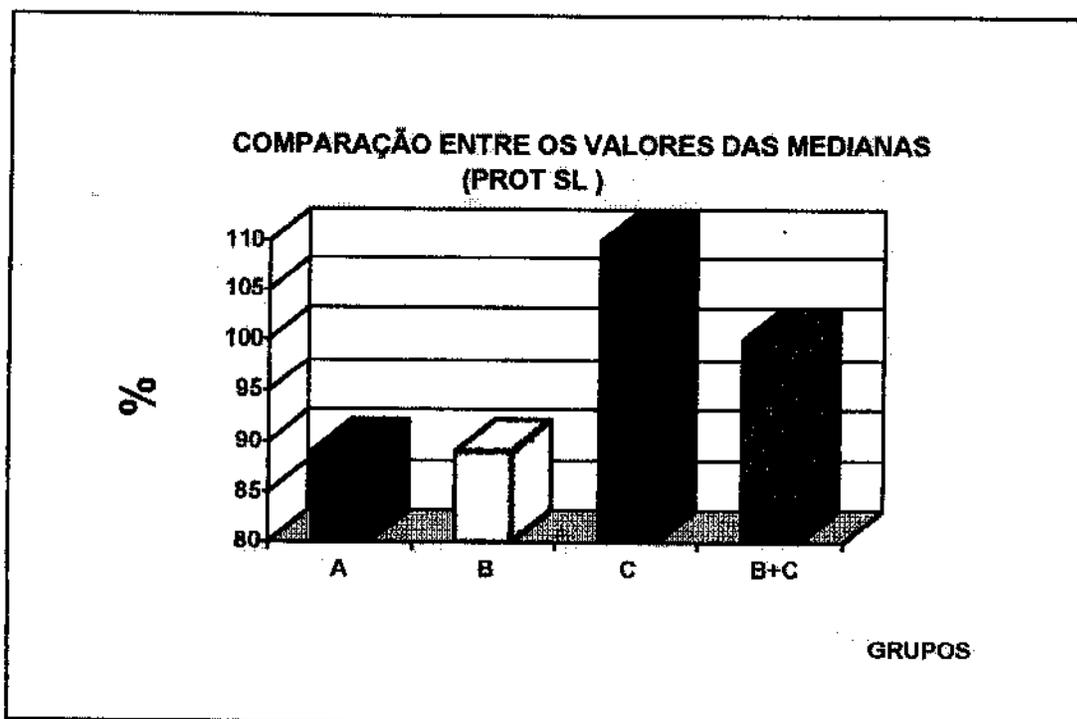
**GRÁFICO 22**

TABELA 21 - PROTEINA S LIVRE - PROT S L

	A	B	C	B+C
<b>MEDIA</b>	94.76	86.1	107.75	100.65
<b>MEDIANA</b>	89	89	110	100
<b>DESV.PADR.</b>	11.83	11.95	22.03	21.77

A/B -  $p = 0,007$ ; B/C -  $z = 3.44$ ,  $p < 0.001$ ; A/B+C -  $z = 2.25$ ,  $p = 0.02$

GRÁFICO 23



## **4.5. Avaliação da Função de Síntese Protéica Hepática**

### ***4.5.1. Pré-albumina***

Os níveis plasmáticos de pré-albumina estiveram diminuídos nos pacientes com TVP quando comparados aos níveis das crianças normais ( $z=2.04$ ,  $p=0.04$ ). O mesmo não aconteceu quando se comparou o grupo de doentes com o grupo controle pareado ( $p=0.68$ ).

Os grupos controles, pareado e não pareado, tiveram comportamento semelhante em relação aos níveis de pré-albumina ( $t= -1.06$ ,  $p=0.29$ ).

Os valores estatísticos estão relacionados na TABELA 22, GRÁFICOS 24 e 25 - pg. 60 - e APÊNDICE 16 - pg. 94.

## **4.6. Fator V de Leiden**

Nenhum paciente apresentou Fator V de Leiden, entretanto em uma criança do grupo B este fator foi encontrado.

## **4.7. Anticoagulante Lúpico**

A presença do anticoagulante lúpico foi detectada em apenas uma das 61 crianças pesquisadas. Esta criança fazia parte do grupo de pacientes - grupo A.

#### **4.8. D-dímero**

Sete crianças do grupo A tiveram níveis de D-dímero superiores a 0,5  $\mu\text{g/ml}$ . APÊNDICE 17 - pg. 95.

TABELA 22 - PRÉ ALBUMINA - PRÉ ALB

	A	B	C	B+C
MEDIA	66.41	78	86.96	85.2
MEDIANA	60	80	83	83.5
DESV.PADR.	21.5	19.32	24.74	23.87

A/B -  $p = 0.68$ ; B/C -  $t = -1.06, p = 0.29$ ; A/B+C -  $z = 2.04, p = 0.04$

GRÁFICO 24

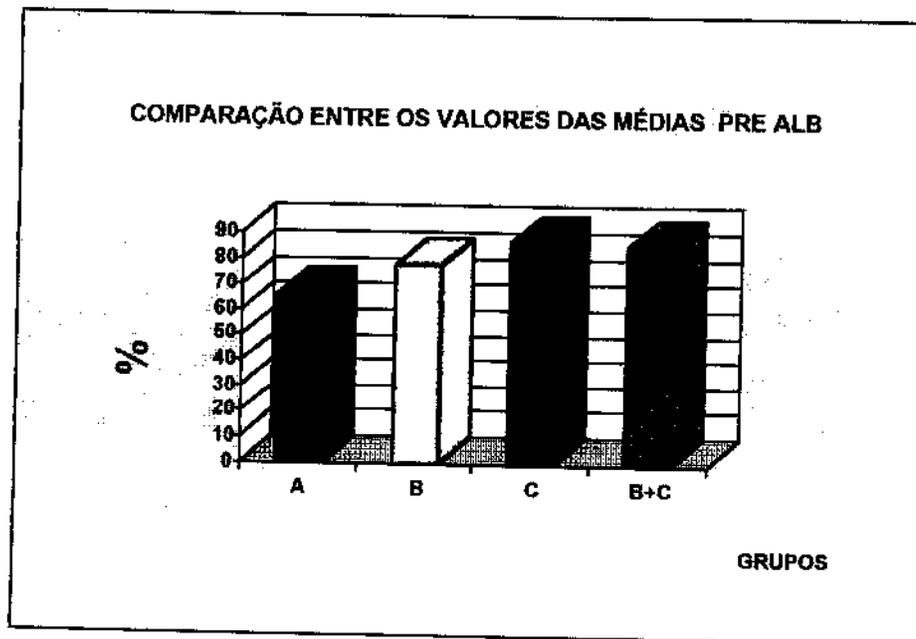
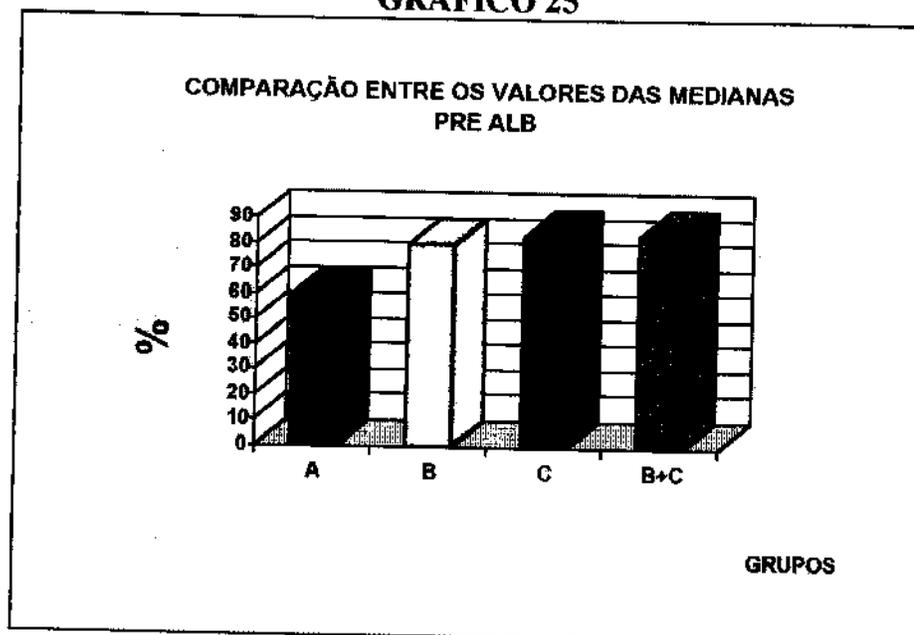


GRÁFICO 25



## **DISCUSSÃO**

---

## **5. DISCUSSÃO**

---

### **5.1. Casuística**

Os pacientes analisados no presente estudo são crianças portadoras de trombose de veia porta (TVP) acompanhadas no ambulatório de Gastroenterologia Pediátrica do Hospital de Clínicas da UNICAMP no período de 1987 a 1995. Durante esse período apenas 1 paciente deixou de ser incluído no estudo, por ter ido a óbito.

Os pacientes procuraram o hospital espontaneamente com queixa de hemorragia digestiva ou eram encaminhados de outros serviços médicos.

O diagnóstico de TVP foi realizado, em todos os casos, através do quadro clínico e de ultra-som abdominal com doppler e em apenas um caso foi realizada esplenoportografia. Este exame foi realizado em 1987, momento em que a ultra-sonografia começava a ser usada como recurso propedêutico de rotina.

No momento do diagnóstico todos os pacientes tinham seu estado geral preservado, não apresentavam comprometimento do estado nutricional, bem como não mostravam nenhum grau de descompensação hepática.

Em todos os pacientes os testes de função hepática foram normais. Os antecedentes familiares para história trombótica ou hemorrágica não foram encontrados.

Não houve predominância, evidente, na distribuição quanto ao sexo, já que em nossa casuística havia 8 meninos e 12 meninas, porém quanto a cor, 15 eram brancos e 5 negróides. As idades variaram de 2 meses a 11 anos com média de 6 anos, quando o diagnóstico de TVP foi realizado.

Na maioria dos casos não foi possível estabelecer a etiologia da TVP, porém, em 5 das 20 crianças (25%) apresentavam fatores que poderiam predispor à TVP. Dois pacientes tinham história de sepsis neonatal; em outro paciente foi feita cateterização umbilical. Um paciente foi submetido a cirurgia por onfalocele rota com 1 dia de vida; e em outro caso o paciente era portador de blastomicose sul americana. Em todos os outros casos não se encontrou nenhum fator que pudesse estar relacionado com o evento trombótico.

Sob o ponto de vista laboratorial, encontramos uma diminuição do número de plaquetas, que variou de  $43.000/\text{mm}^3$  a  $380.000/\text{mm}^3$  com uma média de  $143.000/\text{mm}^3$ . A trombocitopenia é o principal sinal de hiperesplenismo

nesses pacientes (ALVAREZ e cols., 1983). Outro dado relevante foi relativo à leucometria que variou de 1.900/mm a 8.000/mm com média de 4.900/mm<sup>3</sup>.

Quanto a etiologia viral, dois pacientes tinham sorologia positiva para hepatite A, um para hepatite B e um para hepatite C. Em três outros casos houve concomitância de sorologia positiva para citomegalovírus e rubéola (1 paciente), citomegalovírus e hepatite A (1 paciente) e citomegalovírus e hepatite B (1 paciente).

Em praticamente todos os pacientes a imunoglobulina encontrada foi do tipo IgG, porém em um paciente encontrou-se IgM para vírus C e citomegalovírus.

## **5.2. Coagulação e fibrinólise**

Na análise dos exames laboratoriais da coagulação, o tempo de tromboplastina parcial ativado (TTPA) reflete a via intrínseca da coagulação enquanto que o tempo de protrombina (TP), a via extrínseca, e o tempo de trombina (TT) a via final comum (BLOOM, 1990).

Nesse estudo, os resultados mostraram um aumento significativo do TP e do TT, nos pacientes portadores de TVP em relação ao grupo de crianças normais.

Esse aumento do TP e TT poderia ser secundário à diminuição de síntese protéica dos fatores de coagulação.

Em nosso estudo, verificamos uma diminuição dos fatores II e V, o que favoreceria um aumento do TP. Também constatou-se uma diminuição do fibrinogênio, o que poderia contribuir para um aumento do TT.

Em contraposição à hipótese de que haveria diminuição na síntese de fatores de coagulação dependentes da vitamina K, um dos fatores mais sensíveis a essa diminuição, é o fator VII, que não estava alterado. Além disso, ele é o fator de menor vida média, e, portanto, o primeiro a se alterar na deficiência de vitamina K.

Todavia, apesar de não haver insuficiência hepática, pode ter havido apenas uma alteração seletiva na síntese protéica de alguns fatores.

Na TVP, a utilização (metabolismo) da vitamina K poderia estar comprometida e conseqüentemente alterar o TP e TTPA. Contudo, nossos resultados, em relação aos fatores dependentes de vitamina K, mostraram uma diminuição apenas do fator II. Além disso, o TTPA também deveria estar alongado caso houvesse diminuição importante de vitamina K.

Uma outra hipótese é que ocorreria uma ativação da coagulação sangüínea com consumo de fatores de coagulação e diminuição do catabolismo de fatores ativados.

O aumento do TP e do TT poderia ser um reflexo da ativação da coagulação, contudo não verificamos um aumento de D-dímero, que seria importante para confirmar essa hipótese. Por outro lado, não a invalida totalmente, uma vez que pode estar ocorrendo um processo de coagulação intravascular localizada no sistema porta. Esta hipótese é corroborada por ALVAREZ e cols. (1983) que, estudando 104 casos de TVP, encontraram um aumento de D-dímero em apenas 2 pacientes e uma diminuição de fator V e de fibrinogênio na maioria dos casos, com os outros fatores de coagulação em níveis normais.

Esses resultados não sugerem uma falência hepato-celular e sim uma diminuição na vida média do fibrinogênio, pressupondo, dessa forma, um processo de coagulação intravascular localizada no sistema porta.

Outra maneira de explicar um aumento do TT seria se os produtos de degradação da fibrina estivessem aumentados, isto levaria a uma deficiente polimerização da fibrina. Contudo, em nossos pacientes não houve aumento de D-dímero.

A diminuição do fator V verificada em nossos pacientes também poderia explicar o aumento do TP e do TT. Por outro lado, a diminuição do fator V poderia ser explicada por uma diminuição seletiva de síntese com aumento secundário a uma coagulação intravascular localizada ou aumento da fibrinólise.

Este trabalho mostrou que os pacientes portadores de TVP apresentavam diminuição de fibrinogênio. Na TVP pode ocorrer uma alteração funcional do fibrinogênio que, provavelmente, envolve um aumento do ácido siálico, levando a uma disfibrinogenemia (MARTINEZ, PALASCAK, KWASNIEK, 1982). Quando o fibrinogênio é medido por método funcional, e se encontra diminuído e ao mesmo tempo sua dosagem por imunodifusão radial é normal, estamos diante de um caso de disfibrinogenemia (BAAR e cols., 1978; LEVY, PETTEI, WEITZ, 1987). O método utilizado para dosagem do fibrinogênio, nesse estudo, foi o método funcional de Clauss que pode fornecer resultados diminuídos de fibrinogênio na presença de disfibrinogenemia, o que poderia explicar nossos resultados. Nesse caso a dosagem de fibrinogênio pelo método de imunodifusão radial poderia ter sido empregada, esclarecendo melhor essa questão.

A diminuição do fibrinogênio também poderia ser secundária a uma diminuição de síntese protéica.

Esta seria uma hipótese menos provável, pois o fibrinogênio é um dos últimos fatores a diminuir na insuficiência hepática e nossos resultados demonstram que outros fatores como o VII, IX e X estão em níveis normais.

Por outro lado, a diminuição dos fatores II, V e pré-albumina favorecem essa hipótese.

Finalmente, a diminuição do fibrinogênio poderia ocorrer como consequência de uma coagulação intravascular localizada ou fibrinólise primária. Contudo, não pudemos demonstrar aumento de D-dímero que corroboraria essas duas hipóteses.

Entretanto, verificamos um aumento da ALPF e diminuição do TLE no grupo de pacientes o que demonstra um aumento da atividade fibrinolítica.

É importante ressaltar que independentemente do mecanismo envolvido na diminuição do fibrinogênio, esse decréscimo deve ser o principal responsável pelo alongamento do TT.

Nos pacientes com TVP, os fatores VII, IX, X e XII não apresentaram diferença estatisticamente significante em relação ao grupo de crianças normais. Este fato se contrapõe a uma possível deficiência de vitamina K, já que os fatores VII, IX e X estão normais. Quanto ao fator XII, se houvesse uma alteração importante na síntese hepática, ele não seria um dos primeiros a se alterar, logo esse resultado era esperado.

Os fatores VII e X tiveram o mesmo comportamento estatístico, isto é, não houve diferença entre os grupos de crianças normais quando comparadas ao grupo de doentes, porém os dois grupos de crianças normais foram diferentes entre si. Este fato poderia ser explicado porque o grupo B tem média de idade

diferente do grupo C e há estudos que evidenciam que esses fatores têm valores diferentes conforme a faixa etária analisada (ANDREW e cols., 1992).

Em relação à atividade fibrinolítica, o TLE depende dos componentes presentes no precipitado, isto é, do fibrinogênio, do plasminogênio e do ativador do plasminogênio, sem a interferência da maior parte dos inibidores (ASTRUP, 1956). Na preparação da placa de fibrina, o fibrinogênio e o plasminogênio já estão presentes e, portanto, a área de lise em placa de fibrina expressa a atividade do ativador do plasminogênio (ASTTRUP, 1956; BLIX, 1961). Tanto o TLE como a ALPF refletem um balanço dos componentes responsáveis pela fibrinólise. Desta forma, como encontramos uma diminuição no TLE e um aumento na ALPF no grupo de pacientes com TVP em relação ao grupo de crianças normais, isto sugere um estado hiperfibrinolítico.

A hiperfibrinólise pode ser secundária a uma CIVD e/ou um processo primário decorrente do aumento do t-PA e/ou diminuição do PAI.

A coagulação intravascular, como já discutido anteriormente, pode estar presente nesses pacientes.

ROBSON, em 1993, estudando distúrbios da hemostasia em 20 pacientes com hipertensão portal extra hepática (12 com TVP e 8 com TVP e trombose de veia esplênica) observou importante aumento dos PDF. Observou também sensível decréscimo nos níveis do fator V, sugerindo assim uma CIVD,

uma vez que sua caracterização requer demonstração simultânea de ativação da coagulação sangüínea e da fibrinólise.

É interessante ressaltar que a hiperfibrinólise pode ter contribuído para uma diminuição seletiva do fator V.

Portanto, nossos achados favorecem a hipótese de um aumento da fibrinólise secundária a uma ativação da coagulação, apesar de não termos encontrado um aumento de D-dímero.

### **5.3. Fatores Associados às Trombofilias**

O sangue flui através de um circuito virtualmente fechado e sob uma pressão relativamente alta. O termo hemostasia refere-se ao processo envolvido na proteção desse circuito às rupturas e envolve um grande número de interações complexas entre os componentes sangüíneos e a parede vascular. O mesmo processo de ativação de plaquetas e do fibrinogênio em um vaso levemente lesado, pode também conduzir à formação de um trombo, de maneira que a trombose pode ser encarada como um processo hemostático que se desenvolve intensamente e em local inapropriado (VERSTRAETE & VERMYLEN, 1989).

A predisposição a trombose venosa pode ser de origem congênita ou adquirida. Os fatores predisponentes podem ser: fator V de Leiden, substâncias que regulam os fatores ativados da coagulação, e anticoagulante lúpico.

Fator V de Leiden é conseqüente a uma mutação genética no fator V da coagulação sangüínea que leva a uma resistência à ação da proteína C ativada. (GRIFFIN e cols., 1993; KOSTER e cols., 1993; SVENSSON & DAHLBÄCK, 1994). É a alteração congênita mais freqüente e mais importante para o risco de trombozes. (ROSENDAAL, et cols., 1995). Estudos mostram que 20 a 30% dos pacientes com trombose venosa apresentavam o fator V de Leiden.

Em recente estudo em uma população brasileira, ARRUDA, ANNICHINO-BIZZACCHI, COSTA, REITSMA, (1995) verificaram que a freqüência do fator V de Leiden, em pacientes com trombose venosa, é de 20% e de 2% na população normal.

No presente estudo, não foi encontrado em nenhum paciente com TVP a presença de fator V de Leiden, porém uma criança (1:61 → 1,7%) do grupo controle pareado era positiva para o fator V de Leiden. O estudo familiar dessa criança mostrou que o pai também era portador da mesma mutação e assintomáticos.

Nossos resultados sugerem que, apesar do fator V de Leiden ser o mais importante fator associado à trombofilia hereditária, não parece ter nenhum papel etiológico na TVP, em nossos pacientes. Apesar de ser um grupo de 20 pacientes é uma casuística relativamente grande para a patologia (VOORHEES, & PRICE, 1974) estudada e dentro do esperado poderíamos encontrar 4 pacientes com a mutação.

A proteína C é uma proteína, vitamina K dependente, com ação anticoagulante, atuando em conjunto com um co-fator, a proteína S. Ela é ativada pelo complexo trombina-trombomodulina inativando os fatores VII e V ativados. Também pode ter uma ação pró-fibrinolítica através da neutralização do inibidor do ativador do plasminogênio (HOOGENDOORN e cols., 1991; ZINI, 1993).

Estudos que avaliaram a proteína C em pacientes portadores de hepatite C e esquistosomose verificaram uma diminuição de seus níveis plasmáticos (HESHAM, 1993; ANNICHINO-BIZZACCHI e cols., 1993).

A deficiência de proteína C pode ser congênita ou adquirida. Dentre as causas adquiridas estão a CIVD, a deficiência de vitamina K e a deficiência de síntese protéica hepática.

A deficiência congênita de proteína C, de caráter autossômico dominante, tem uma prevalência estimada de 1:15.000 na população em geral.

Neste estudo, os níveis plasmáticos de proteína C no grupo de pacientes não diferiu estatisticamente dos grupos de crianças normais. Isto sugere que os níveis e o metabolismo da vitamina K estão adequados, já que a síntese desse inibidor da coagulação depende da vitamina K. Além disso, outros fatores de coagulação como o VII, IX e X (vitamina K dependentes) também estão em níveis normais, o que corrobora essa hipótese.

Em nosso trabalho, uma das crianças portadoras de TVP apresentou níveis plasmáticos de proteína C diminuídos. A deficiência congênita de proteína C foi descartada uma vez que os pais da paciente apresentavam níveis normais de proteína C. Essa criança apresentava níveis diminuídos de fator V (35%) e pré-albumina (33%) sugerindo deficiência de síntese protéica hepática. Essa criança também apresentava outras alterações como aumento do TT e do TP sugerindo deficiência de síntese protéica hepática.

A deficiência de proteína C verificada nessa paciente sugere que ela seja uma conseqüência e não a causa da TVP.

A proteína S, como a proteína C, é uma glicoproteína, vitamina K dependente, sintetizada no fígado. Ela atua como co-fator da proteína C inibindo os fatores Va e VIIIa. Está presente no plasma sob a forma livre e complexada ao C4 "binding protein" (C4bBP), um componente do sistema complemento.

As deficiências de proteína S podem ser congênitas ou adquiridas como complicações de algumas doenças, tais como doença hepática severa, lúpus eritematoso disseminado, diabetes e também na gravidez (CONARD, 1986).

As proteínas S total e livre estão aumentadas nos doentes portadores de TVP em relação ao grupo de crianças normais, porém os pacientes tinham níveis plasmáticos de proteína S total e livre dentro dos limites de normalidade do laboratório. Também verificou-se uma diferença entre os grupos normais B e C o

que poderia ser explicado pela diferença de faixa etária (ANDREW e cols., 1992).

A normalidade dos níveis plasmáticos de proteína S favoreceria ainda mais a hipótese de que a vitamina K esteja com seu metabolismo normal.

O anticoagulante lúpico (AL) é uma imunoglobulina (IgG ou IgM) encontrada em 5 a 10 % dos pacientes com Lupus Eritematoso Sistêmico (LES), anemia hemolítica auto-imune, púrpura trombocitopênica idiopática, artrite reumatóide e no curso de neoplasias, sobretudo as de origem mielóide e linfóide. Às vezes pode ser observado em indivíduos sem patologia evidente.

O AL é um inibidor da coagulação sangüínea que interfere com a fração fosfolipídica do complexo ativador da trombina (Xa, Va, Ca e fosfolípidos).

Os indivíduos com AL geralmente não apresentam tendência à hemorragia, mesmo após grandes cirurgias, exceto se houver associação com outras disfunções hemostáticas. Ao contrário, complicações trombóticas são observadas em 30 a 50% dos pacientes com LES e AL positivo sugerindo uma tendência à trombose (VERSTRAETE & VERMYLEN, 1989).

A maior parte dos estudos sobre a patogênese da trombose em pacientes com AL têm sido dirigidos para detectar alterações de plaquetas ou da função celular endotelial devidas à interação do AL com a membrana

fosfolipídica das células. A fração gama globulínica de certos pacientes com AL atua diminuindo a produção de prostaciclina e, conseqüentemente, aumento da agregação plaquetária (CARRERAS, MACHIN, DEMAN, 1981); inibindo a ativação da proteína C pelas células endoteliais (COMP, 1986) e também aumentando a produção de tromboxane A produzido pelas plaquetas (HASSELAAR e cols., 1988). Entretanto, nenhum desses mecanismos explica, no todo, a tendência à trombose nos pacientes com AL, sugerindo que um mecanismo diferente ou uma associação de mecanismos possam estar envolvidos (PROST e cols., 1990).

No presente estudo encontrou-se apenas um caso de AL positivo confirmado pelo PNP, (TRIPLETT e cols, 1982). Esse paciente apresentava TTPA normal e um TP alongado. Todos os outros parâmetros analisados foram normais. A presença do AL pode ser considerada como sendo o fator causal da TVP, apesar do longo tempo entre o diagnóstico de TVP e a elaboração do exame.

A síndrome antifosfolipídica é a principal causa de trombofilia adquirida e a presença dos anticorpos antifosfolipídicos pode acontecer em uma série de situações clínicas como por exemplo síndromes neurológicas, obstétricas, doenças hematológicas como púrpura trombocitopênica e artrite reumatóide (BICK & BAKER, 1994).

#### 5.4. Síntese Protéica Hepática

A pré-albumina é uma proteína sintetizada apenas pelo fígado que se liga à tiroxina e tem propriedades semelhantes à albumina, com vida média de 1,9 dias. Foram encontrados níveis reduzidos de pré-alb em hepatite crônica, hepatite alcoólica, cirrose e insuficiência hepática por paracetamol. Na insuficiência renal crônica, os níveis de pré-albumina podem estar alterados, independentemente da função hepática, talvez por ser catabolizado pelo rim (RONDANA e cols., 1987).

A capacidade de se detectar disfunção hepática precocemente pela dosagem de pré-alb tem sido aceita, e esta proteína é considerada como um indicador sensível para avaliar as alterações que afetam a síntese hepática, na ausência de um processo inflamatório (RONDANA e cols., 1987). Entretanto, outros estados mórbidos cursam com reduzidos níveis de pré-alb, sem que isso signifique insuficiência hepática. Durante a sepsis, o fígado aumenta o metabolismo dos aminoácidos, incrementando a síntese de proteínas de fase aguda. A nível celular, ocorre uma modulação com o aumento de proteínas de fase aguda e redução das proteínas carreadoras de menor importância nesse momento, como a albumina e a transferrina, que têm sua síntese reduzida (GIMSON, 1987). Assim como a albumina, a pré-alb pode ter seus níveis séricos reduzidos em diversos processos mórbidos, nos quais as proteínas de fase aguda têm seus níveis elevados. Foram descritos níveis baixos de pré-alb em neoplasias

intestinais (MILANO e cols., 1978), em grandes queimados e na colite ulcerativa (KOHN, HERNANDEZ, RICHES, 1978).

Os níveis reduzidos de pré-alb encontrados em nossos pacientes podem significar, tanto diminuição da síntese hepática decorrente da modulação de síntese protéica, como comprometimento da síntese hepática, fato que é corroborado, principalmente, pela redução dos níveis dos fatores II e V.

Uma vez que a função de síntese hepática protéica parece estar normal, pois várias das proteínas de síntese hepática encontram-se preservadas, e a redução dos fatores II e V e o prolongamento do TP e do TT parecem, muito mais, significar uma modulação de síntese protéica ou um aumento do consumo secundário à ativação da coagulação.

## **CONCLUSÕES**

---

## 6. CONCLUSÕES

---

### 6.1. Coagulação Sangüínea e Fibrinólise

6.1.1. O **alongamento** do TP e do TT deve ter ocorrido em função de diminuição de síntese dos fatores de coagulação ou ativação da coagulação e fibrinólise secundária.

6.1.2. A **diminuição** do F II e F V, pode ter ocorrido por diminuição seletiva da síntese, ou por aumento da fibrinólise, conseqüente a um aumento de consumo secundário à ativação da coagulação

6.1.3. A **diminuição do fibrinogênio** pode ter sido causada por diminuição de síntese, alteração funcional, coagulação intravascular localizada ou hiperfibrinólise.

6.1.4. O aumento da área de lise em placa de fibrina e a diminuição do tempo de lise de euglobulina sugerem um **aumento da atividade fibrinolítica** que pode ter sido secundária a ativação da coagulação ou a uma alteração da metabolização do t-PA. As alterações

encontradas podem sugerir uma ativação da coagulação e fibrinólise secundária em menor grau, uma diminuição da síntese protéica hepática.

**6.2.** O metabolismo da vitamina K parece estar *preservado* nesses portadores de TVP, uma vez que os fatores VII, IX, X proteína C e S não estavam alterados

**6.3. Trombofilia primária ou adquirida:** *Não foram encontradas deficiências congênitas* de PROT C e PROT S nos pacientes estudados. Nenhum paciente era portador do fator V de Leiden. Apenas um paciente apresentou anticoagulante lúpico.

## **APÊNDICES**

---

## 7. APÊNDICES

### APÊNDICE 1 - TEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL ATIVADO TTPA

	A	B		C
1-	1.27	1.12	1-	0.98
2-	1.50	1.07	2-	0.99
3-	1.32	1.17	3-	1.04
4-	1.27	1.13	4-	0.97
5-	1.44	1.14	5-	1.03
6-	1.07	1.10	6-	1.03
7-	1.25	1.23	7-	1.02
8-	1.06	1.00	8-	1.09
9-	1.08	1.34	9-	1.34
10-	1.17	1.11	10-	0.96
11-	1.02	1.03	11-	0.91
12-	0.92	1.05	12-	1.13
13-	0.94	1.17	13-	0.95
14-	0.88	1.14	14-	0.92
15-	0.94	1.19	15-	1.35
16-	1.07	1.05	16-	1.27
17-	1.05	1.04	17-	1.15
18-	1.15	1.21	18-	1.37
19-	1.26	0.96	19-	1.24
20-	1.10	1.22	20-	1.12
				21- 1.26
				22- 1.08
				23- 1.17
				24- 1.04
				25- 1.04
				26- 1.13
				27- 1.13
				28- 1.19
				29- 1.10
				30- 0.99
				31- 1.22
				32- 1.09
				33- 0.99
				34- 0.89
				35- 0.96
				36- 0.95
				37- 1.02
				38- 0.89
				39- 1.03
				40- 0.99
				41- 1.00
<b>MEDIA</b>	1.13	1.12		1.07
<b>MED.</b>	1.09	1.12		1.04
<b>D.PAD</b>	0.17	0.09		0.12
<b>N</b>	20	20		41

**APÊNDICE 2 - TEMPO DE PROTROMBINA  
TP**

	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	
<b>1-</b>	1.51	1.01	<b>1-</b> 1.06	<b>21-</b> 1.10
<b>2-</b>	1.82	1.01	<b>2-</b> 1.09	<b>22-</b> 1.08
<b>3-</b>	1.20	1.09	<b>3-</b> 1.00	<b>23-</b> 1.20
<b>4-</b>	1.35	1.07	<b>4-</b> 1.01	<b>24-</b> 1.00
<b>5-</b>	1.74	1.03	<b>5-</b> 1.00	<b>25-</b> 1.10
<b>6-</b>	1.28	1.21	<b>6-</b> 1.01	<b>26-</b> 1.09
<b>7-</b>	1.48	1.17	<b>7-</b> 1.17	<b>27-</b> 1.10
<b>8-</b>	1.05	1.00	<b>8-</b> 1.24	<b>28-</b> 1.03
<b>9-</b>	1.30	1.30	<b>9-</b> 1.36	<b>29-</b> 1.06
<b>10-</b>	1.20	1.00	<b>10-</b> 1.00	<b>30-</b> 1.06
<b>11-</b>	1.28	1.01	<b>11-</b> 1.00	<b>31-</b> 1.00
<b>12-</b>	1.06	1.12	<b>12-</b> 1.02	<b>32-</b> 1.17
<b>13-</b>	1.12	1.00	<b>13-</b> 1.00	<b>33-</b> 1.00
<b>14-</b>	1.10	1.04	<b>14-</b> 1.00	<b>34-</b> 1.10
<b>15-</b>	1.06	1.06	<b>15-</b> 1.15	<b>35-</b> 1.00
<b>16-</b>	1.08	1.00	<b>16-</b> 1.14	<b>36-</b> 1.04
<b>17-</b>	1.54	1.22	<b>17-</b> 1.16	<b>37-</b> 1.00
<b>18-</b>	1.35	1.03	<b>18-</b> 1.01	<b>38-</b> 1.00
<b>19-</b>	1.17	1.00	<b>19-</b> 1.22	<b>39-</b> 1.04
<b>20-</b>	1.07	1.05	<b>20-</b> 1.14	<b>40-</b> 1.02
				<b>41-</b> 1.00
<b>MEDIA</b>	1.28	1.07	1.07	
<b>MED</b>	1.24	1.03	1.04	
<b>D.PAD</b>	0.22	0.08	0.08	
<b>N</b>	20	20	41	

**APÊNDICE 3 - TEMPO DE TROMBINA  
TT**

	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	
1-	1.325	0.974	1- 0.983	21- 1.056
2-	1.136	1.067	2- 1.016	22- 1.232
3-	1.090	1.010	3- 1.092	23- 0.912
4-	1.125	0.915	4- 1.147	24- 1.008
5-	1.125	1.005	5- 1.060	25- 1.136
6-	1.120	1.010	6- 1.060	26- 1.040
7-	1.140	1.095	7- 1.109	27- 1.472
8-	1.198	0.910	8- 1.071	28- 1.200
9-	1.200	1.210	9- 0.945	29- 0.992
10-	1.062	1.025	10- 1.038	30- 1.088
11-	1.050	1.072	11- 0.983	31- 1.008
12-	1,152	1.060	12- 1.016	32- 0.976
13-	0.984	0.932	13- 0.983	33- 1.040
14-	1.094	1.090	14- 0.983	34- 1.040
15-	1.000	0.948	15- 1.248	35- 1.040
16-	1.175	0.963	16- 1.296	36- 1.008
17-	1.20	1,035	17- 1.248	37- 1.216
18-	1,052	1.036	18- 1.392	38- 0.912
19-	1.136	1.055	19- 1.040	39- 1.040
20-	0.960	1.150	20- 0.976	40- 1.552
				41- 1.440
<b>MEDIA</b>	1.10	1.02	1.1	
<b>MED</b>	1.12	1.02	1.04	
<b>D.PAD</b>	0.08	0.07	0.15	
<b>N</b>	20	20	41	

## APÊNDICE 4 - FATOR II

	A	B	C
1-	75	107	1- 101
2-	104	112	2- 88
3-	86	91	3- 116
4-	84	91	4- 119
5-	82	98	5- 120
6-	77	92	6- 115
7-	76	91	7- 101
8-	72	79	8- 121
9-	71	96	9- 98
10-	104	154	10- 94
11-	67	113	11- 121
12-	97	104	12- 88
13-	81	94	13- 108
14-	74	98	14- 115
15-	110	98	15- 108
16-	87	103	16- 101
17-	80	83	17- 80
18-	58	105	18- 86
19-	81	101	19- 89
20-	103	78	20- 78
			41- 105
<b>MEDIA</b>	83.45	99.42	95.82
<b>D.PAD</b>	13.8	16.15	13.79
<b>N</b>	20	20	41

## APÊNDICE 5 - FATOR V

	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	
<b>1-</b>	35	84	<b>1- 70</b>	<b>21- 70</b>
<b>2-</b>	45	106	<b>2- 100</b>	<b>22- 80</b>
<b>3-</b>	70	105	<b>3- 140</b>	<b>23- 66</b>
<b>4-</b>	58	82	<b>4- 74</b>	<b>24- 66</b>
<b>5-</b>	50	105	<b>5- 130</b>	<b>25- 70</b>
<b>6-</b>	86	100	<b>6- 96</b>	<b>26- 100</b>
<b>7-</b>	74	90	<b>7- 80</b>	<b>27- 98</b>
<b>8-</b>	64	120	<b>8- 80</b>	<b>28- 120</b>
<b>9-</b>	76	70	<b>9- 70</b>	<b>29- 90</b>
<b>10-</b>	88	105	<b>10- 90</b>	<b>30- 86</b>
<b>11-</b>	70	140	<b>11- 130</b>	<b>31- 105</b>
<b>12-</b>	83	105	<b>12- 96</b>	<b>32- 78</b>
<b>13-</b>	105	84	<b>13- 86</b>	<b>33- 90</b>
<b>14-</b>	84	68	<b>14- 150</b>	<b>34- 120</b>
<b>15-</b>	---	99	<b>15- 74</b>	<b>35- 120</b>
<b>16-</b>	88	103	<b>16- 80</b>	<b>36- 98</b>
<b>17-</b>	62	68	<b>17- 74</b>	<b>37- 160</b>
<b>18-</b>	52	82	<b>18- 74</b>	<b>38- 100</b>
<b>19-</b>	86	120	<b>19- 115</b>	<b>39- 86</b>
<b>20-</b>	82	68	<b>20- 80</b>	<b>40- 70</b>
				<b>41- 96</b>
<b>MEDIA</b>	71.47	95.2	94.09	
<b>MED</b>	74	99.5	90	
<b>D.PAD</b>	17.83	19.62	23.69	
<b>N</b>	19	20	41	

## APÊNDICE 6 -FATOR VII

	A	B	C	
1-	214	115	1- 82	21- 82
2-	88	115	2- 81	22- 78
3-	130	102	3- 106	23- 71
4-	78	93	4- 75	24- 93
5-	150	104	5- 107	25- 86
6-	115	100	6- 83	26- 68
7-	124	89	7- 113	27- 86
8-	100	145	8- 66	28- 92
9-	81	79	9- 88	29- 99
10-	96	130	10- 118	30- 162
11-	91	130	11- 79	31- 71
12-	115	71	12- 83	32- ---
13-	90	130	13- 79	33- ---
14-	88	93	14- 78	34- ---
15-	90	90	15- 106	35- 122
16-	82	130	16- 94	36- 69
17-	57	88	17- 76	37- 78
18-	88	105	18- 89	38- 115
19-	100	98	19- 51	39- 79
20-	162	114	20- 211	40- 102
				41- 111
<b>MEDIA</b>	106.95	106.07	92.91	
<b>MED</b>	93.5	103	84.5	
<b>D.PAD</b>	35.57	19.59	28.12	
<b>N</b>	20	20	38	

## APÊNDICE 7 -FATOR IX

	A	B	C	
1-	114	68	1- 104	21- 70
2-	54	90	2- 98	22- 115
3-	75	89	3- 69	23- 72
4-	105	151	4- 69	24- 121
5-	130	162	5- 86	25- 158
6-	71	120	6- 73	26- 127
7-	109	113	7- 60	27- 84
8-	83	200	8- 159	28- 110
9-	97	107	9- 60	29- 91
10-	91	138	10- 77	30- 140
11-	89	74	11- 71	31- 111
12-	80	149	12- 110	32- 101
13-	12	93	13- 68	33- 132
14-	96	149	14- 60	34- 177
15-	60	70	15- 61	35- 122
16-	93	96	16- 85	36- 128
17-	202	101	17- 90	37- 134
18-	83	84	18- 120	38- 175
19-	78	191	19- 92	39- 86
20-	183	117	20- 61	40- 123
				41- 131
<b>MEDIA</b>	101.07	118.1	101.99	
<b>MED</b>	92.2	110		
<b>D.PAD</b>	37.26	38.70	32.62	
<b>N</b>	20	20	41	

## APÊNDICE 8 - FATOR X

	A	B	C	
1-	83	102	1- 94	21- 82
2-	72	91	2- 85	22- 64
3-	125	78	3- 98	23- 66
4-	69	94	4- 98	24- 90
5-	68	84	5- 93	25- 77
6-	75	88	6- 101	26- 81
7-	74	84	7- 74	27- 75
8-	69	109	8- 97	28- 73
9-	77	84	9- 79	29- 83
10-	72	131	10- 90	30- 92
11-	86	105	11- 82	31- 79
12-	121	104	12- 83	32- 83
13-	109	87	13- 93	33- 87
14-	74	94	14- 73	34- 85
15-	89	74	15- 79	35- 85
16-	96	87	16- 96	36- 85
17-	82	70	17- 72	37- 72
18-	99	87	18- 98	38- 68
19-	125	108	19- 66	39- 74
20-	111	66	20- 85	40- 70
				41- 100
<b>MEDIA</b>	88.82	91./35	83.15	
<b>D.PAD</b>	19.65	15.29	10.34	
<b>N</b>	20	20	41	

## APÊNDICE 9 -FATOR XII

	A	B	C	
1-	76	75	1- 87	21- 74
2-	73	95	2- 71	22- 80
3-	69	104	3- 104	23- 105
4-	67	69	4- 140	24- 61
5-	67	100	5- 105	25- 70
6-	63	70	6- 94	26- 106
7-	72	95	7- 103	27- 74
8-	65	87	8- 105	28- 83
9-	100	85	9- 110	29- 103
10-	240	107	10- 97	30- 85
11-	92	117	11- 110	31- 94
12-	85	106	12- 78	32- 65
13-	86	89	13- 110	33- 88
14-	89	85	14- 125	34- 62
15-	96	72	15- 90	35- 103
16-	90	89	16- 101	36- 99
17-	74	78	17- 70	37- 102
18-	91	82	18- 82	38- 83
19-	83	123	19- 68	39- 85
20-	101	61	20- 92	40- 111
				41- 79
<b>MEDIA</b>	88.97	89.63	91.51	
<b>MED</b>	84.25	88.25	92	
<b>D.PAD</b>	37.51	16.46	17.50	
<b>N</b>	20	20	41	

**APÊNDICE 10 - ÁREA DE LISE EM PLACA DE FIBRINA  
ALPF**

	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	
1-	121	36	1- 128	21- 72
2-	121	81	2- ---	22- 154
3-	132	156	3- 150	23- 135
4-	240	64	4- 144	24- 81
5-	132	64	5- 81	25- 56
6-	210	36	6- 56	26- 66
7-	231	56	7- 76	27- 90
8-	288	156	8- 85	28- 80
9-	210	77	9- ---	29- 112
10-	286	25	10- 90	30- 132
11-	210	99	11- 170	31- 98
12-	380	130	12- 80	32- 112
13-	221	105	13- 216	33- 90
14-	336	49	14- 99	34- 49
15-	247	105	15- 210	35- 180
16-	240	56	16- 280	36- 122
17-	308	56	17- 208	37- 108
18-	330	70	18- 143	38- 63
19-	---	49	19- 154	39- 64
20-	---	49	20- 64	40- 120
				41- 108
<b>MEDIA</b>	240.72	75.95	116.06	
<b>MED</b>	240	64	108	
<b>D.PAD</b>	79.43	38.02	51.88	
<b>N</b>	18	20	39	

**APÊNDICE 11 - TEMPO DE LISE DE EUGLOBULINA  
TLE**

	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	
<b>1-</b>	480	300	<b>1-</b> 410	<b>21-</b> 395
<b>2-</b>	720	390	<b>2-</b> 410	<b>22-</b> 240
<b>3-</b>	1020	220	<b>3-</b> 260	<b>23-</b> 485
<b>4-</b>	230	235	<b>4-</b> 410	<b>24-</b> 255
<b>5-</b>	290	440	<b>5-</b> 410	<b>25-</b> 430
<b>6-</b>	440	535	<b>6-</b> 560	<b>26-</b> 340
<b>7-</b>	440	595	<b>7-</b> 410	<b>27-</b> 280
<b>8-</b>	290	415	<b>8-</b> 380	<b>28-</b> 400
<b>9-</b>	290	440	<b>9-</b> 410	<b>29-</b> 425
<b>10-</b>	260	220	<b>10-</b> 410	<b>30-</b> 390
<b>11-</b>	380	240	<b>11-</b> 380	<b>31-</b> 480
<b>12-</b>	140	255	<b>12-</b> 410	<b>32-</b> 460
<b>13-</b>	380	380	<b>13-</b> 410	<b>33-</b> 395
<b>14-</b>	170	390	<b>14-</b> 410	<b>34-</b> 430
<b>15-</b>	230	620	<b>15-</b> 320	<b>35-</b> 485
<b>16-</b>	140	390	<b>16-</b> 185	<b>36-</b> 330
<b>17-</b>	170	560	<b>17-</b> 320	<b>37-</b> 375
<b>18-</b>	290	250	<b>18-</b> 325	<b>38-</b> 460
<b>19-</b>	200	680	<b>19-</b> 470	<b>39-</b> 460
<b>20-</b>	420	230	<b>20-</b> 430	<b>40-</b> 440
				<b>41-</b> 330
<b>MEDIA</b>	349	389.25	390.61	
<b>MED</b>	290	390	410	
<b>D.PAD</b>	211.80	146.98	74.95	
<b>N</b>	20	20	41	

**APÊNDICE 12 - FIBRINOGÊNIO  
FIBR**

	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	
<b>1-</b>	148	230	<b>1-</b> 260	<b>21-</b> 282
<b>2-</b>	189	159	<b>2-</b> 226	<b>22-</b> 236
<b>3-</b>	335	215	<b>3-</b> 236	<b>23-</b> 326
<b>4-</b>	200	283	<b>4-</b> 269	<b>24-</b> 386
<b>5-</b>	199	254	<b>5-</b> 443	<b>25-</b> 329
<b>6-</b>	190	151	<b>6-</b> 360	<b>26-</b> 305
<b>7-</b>	189	244	<b>7-</b> 191	<b>27-</b> 277
<b>8-</b>	173	426	<b>8-</b> 273	<b>28-</b> 257
<b>9-</b>	164	164	<b>9-</b> 470	<b>29-</b> 217
<b>10-</b>	175	291	<b>10-</b> 271	<b>30-</b> 369
<b>11-</b>	143	338	<b>11-</b> 299	<b>31-</b> 243
<b>12-</b>	191	190	<b>12-</b> 249	<b>32-</b> 315
<b>13-</b>	181	238	<b>13-</b> 288	<b>33-</b> 342
<b>14-</b>	155	259	<b>14-</b> 371	<b>34-</b> 315
<b>15-</b>	232	188	<b>15-</b> 322	<b>35-</b> 281
<b>16-</b>	209	307	<b>16-</b> 286	<b>36-</b> 280
<b>17-</b>	196	233	<b>17-</b> 363	<b>37-</b> 246
<b>18-</b>	153	258	<b>18-</b> 323	<b>38-</b> 278
<b>19-</b>	192	316	<b>19-</b> 294	<b>39-</b> 270
<b>20-</b>	400	165	<b>20-</b> 315	<b>40-</b> 334
				<b>41-</b> 231
<b>MEDIA</b>	200.77	245.5	298.25	
<b>MED</b>	189.5	241.25	286	
<b>D.PAD</b>	61.94	69.21	58.18	
<b>N</b>	20	20	41	

**APÊNDICE 13 - PROTEÍNA C  
PROT C**

	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	
<b>1-</b>	62	75	<b>1-</b> 110	<b>21-</b> 91
<b>2-</b>	85	90	<b>2-</b> 98	<b>22-</b> 131
<b>3-</b>	202	120	<b>3-</b> 155	<b>23-</b> 85
<b>4-</b>	85	109	<b>4-</b> 150	<b>24-</b> 123
<b>5-</b>	109	41	<b>5-</b> 136	<b>25-</b> 90
<b>6-</b>	98	87	<b>6-</b> 119	<b>26-</b> 131
<b>7-</b>	139	125	<b>7-</b> 119	<b>27-</b> 131
<b>8-</b>	94	147	<b>8-</b> 119	<b>28-</b> 123
<b>9-</b>	108	93	<b>9-</b> 155	<b>29-</b> 70
<b>10-</b>	105	99	<b>10-</b> 115	<b>30-</b> 107
<b>11-</b>	77	75	<b>11-</b> 75	<b>31-</b> 99
<b>12-</b>	80	147	<b>12-</b> 110	<b>32-</b> 110
<b>13-</b>	80	87	<b>13-</b> 110	<b>33-</b> 107
<b>14-</b>	85	115	<b>14-</b> 106	<b>34-</b> 123
<b>15-</b>	90	90	<b>15-</b> 107	<b>35-</b> 131
<b>16-</b>	131	87	<b>16-</b> 107	<b>36-</b> 115
<b>17-</b>	85	110	<b>17-</b> 123	<b>37-</b> 123
<b>18-</b>	80	115	<b>18-</b> 115	<b>38-</b> 99
<b>19-</b>	90	115	<b>19-</b> 115	<b>39-</b> 107
<b>20-</b>	131	93	<b>20-</b> 115	<b>40-</b> 99
				<b>41-</b> 99
<b>MEDIA</b>	100.8	101	113.24	
<b>MED</b>	90	96	115	
<b>D.PAD</b>	31.04	34.93	18.62	
<b>N</b>	20	20	41	

**APÊNDICE 14 - PROTEÍNA S TOTAL  
PROT S T**

	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>
1-	---	82	1- 81      21- 92
2-	---	72.5	2- 76      22- 91
3-	---	91	3- 85.5    23- 100
4-	72.5	72.5	4- 81      24- 91
5-	109	91	5- 138     25- 91
6-	91	72	6- 85.5    26- 100
7-	91	91	7- 95      27- 72
8-	91	72.5	8- 109     28- 77
9-	82	72.5	9- 109     29- 91
10-	127	91	10- 81     30- 113
11-	109	91	11- 77     31- 91
12-	100	82	12- 124    32- 82
13-	109	82	13- 90     33- 82
14-	91	72.5	14- 85     34- 82
15-	109	82	15- 92     35- 109
16-	109	72.5	16- 92     36- 91
17-	127	91	17- 84     37- 91
18-	83	91	18- 82     38- 100
19-	100	91	19- 82     39- 82
20-	91	72.5	20- 100    40- 72
			41- 91
<b>MEDIA</b>	99.5	81.8	91.22
<b>MED</b>	100	82	91
<b>D.PAD</b>	15.06	8.48	13.57
<b>N</b>	17	20	41

**APÊNDICE 15 - PROTEÍNA S LIVRE  
PROT S L**

	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	
<b>1-</b>	---	89	<b>1-</b> 120	<b>21-</b> 87
<b>2-</b>	---	89	<b>2-</b> 140	<b>22-</b> 85
<b>3-</b>	---	89	<b>3-</b> 120	<b>23-</b> 108
<b>4-</b>	89	89	<b>4-</b> 60	<b>24-</b> 85
<b>5-</b>	89	77.5	<b>5-</b> 140	<b>25-</b> 116
<b>6-</b>	89	77.5	<b>6-</b> 110	<b>26-</b> 100
<b>7-</b>	89	89	<b>7-</b> 120	<b>27-</b> 85
<b>8-</b>	89	66.5	<b>8-</b> 140	<b>28-</b> 133
<b>9-</b>	89	77.5	<b>9-</b> 120	<b>29-</b> 150
<b>10-</b>	111	111	<b>10-</b> 100	<b>30-</b> 116
<b>11-</b>	111	111	<b>11-</b> 133	<b>31-</b> 85
<b>12-</b>	111	89	<b>12-</b> 120	<b>32-</b> 85
<b>13-</b>	89	89	<b>13-</b> 130	<b>33-</b> 85
<b>14-</b>	89	66.5	<b>14-</b> 120	<b>34-</b> 133
<b>15-</b>	89	89	<b>15-</b> 125	<b>35-</b> 116
<b>16-</b>	111	89	<b>16-</b> 100	<b>36-</b> 85
<b>17-</b>	111	89	<b>17-</b> 100	<b>37-</b> 57
<b>18-</b>	77,5	89	<b>18-</b> 85	<b>38-</b> 114
<b>19-</b>	77.5	66.5	<b>19-</b> 85	<b>39-</b> 100
<b>20-</b>	100	89	<b>20-</b> 100	<b>40-</b> 100
				<b>41-</b> 125
<b>MEDIA</b>	94.76	86.1	107.75	
<b>MED</b>	89	89	110	
<b>D.PAD</b>	11.83	11.95	22.03	
<b>N</b>	17	20	41	

**APÊNDICE 16 - PRÉ-ALBUMINA  
PRÉ-ALB**

	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	
1-	33.5	80	1- 66.5	21- 66.5
2-	60	100	2- 58.5	22- 111
3-	50	---	3- 100	23- 89
4-	50	---	4- 91.5	24- 77.5
5-	58.5	---	5- 80	25- 66,5
6-	100	100	6- 110	26- 33.5
7-	58.5	---	7- 120	27- 89
8-	70	---	8- 100	28- 91.5
9-	50	---	9- 100	29- 100
10-	110	100	10- 70	30- 108
11-	41.5	40	11- 60	31- 122
12-	60	---	12- 60	32- 77.5
13-	80	80	13- 60	33- 77
14-	80	---	14- 80	34- 116
15-	50	70	15- 100	35- 155
16-	---	80	16- 33.5	36- 111
17-	---	70	17- 83.5	37- 89
18-	100	60	18- 83.5	38- 83
19-	60	---	19- 66	39- 89
20-	83,5	---	20- 66.5	40- 91
				41- 133
<b>MEDIA</b>	66.41	78	86.96	
<b>MED</b>	60	80	83	
<b>D.PAD</b>	21.5	19.32	24.74	
<b>N</b>	18	10	41	

**APÊNDICE 17 - D-dímero**

	<b>A</b>
1-	< 0,5
2-	< 0,5
3-	1
4-	< 0,5
5-	< 0,5
6-	0,5
7-	< 0,5
8-	1
9-	1
10-	1
11-	< 0,5
12-	< 0,5
13-	< 0,5
14-	1
15-	< 0,5
16-	1
17-	1
18-	< 0,5
19-	< 0,5
20-	< 0,5
<b>N</b>	<b>20</b>

## **SUMMARY**

---

## **8. SUMMARY**

---

Although venous thrombosis is rare in childhood, yet it is morbid and sometimes fatal. Some factors such as infections, congenital anomalies, umbilical catheterism and genetical coagulation disorders have been linked to portal vein thrombosis (TVP). Hemostasis disorders have not been studied deeply and very few data is available. Having in mind to research some of the hemostasis components in TVP patients, it was suggested to study their coagulation. When analyzing coagulation and fibrinolysis, a stretch of prothrombin time (TP) and thrombin time (TT) were noted in TVP patients, probably due to activated clotting, even though a D-dimmer increase was absent, or a proteic synthesis decrease. It was also noted that factors II and V decreased, thus causing a TP and TT increase, probably caused by a selective lowering or a fibrinolysis increase. Fibrinogen was reduced probably because of its functional disorder, leading to a dysfibrinogenemia, or lowering the proteic synthesis or even by a local intravascular clotting or primary fibrinolysis. Our data shows that in TVP

patients the vitamin K metabolism was unaffected since the activated partial thromboplastin time (TTPA) was normal, except for a decrease of the factor II, which depends of this vitamin. The normal protein C (PROT C) and protein S (PROT S) levels in patients, strengthened this finding. Hyperfibrinolysis found by a lysis area in fibrin plates (ALPF) increase and an euglobulin lysis time (TLE) shortening could have led to a selective factor V decrease. A local intravascular clotting may have occurred since it is assumed that coagulation activation and fibrinolysis are simultaneous even though D-dimer increase was absent. Factor V Leiden, although being the most frequent hereditary disorder for venous thrombosis, was not found in our group of patients, and probable is not related to TVP. One patient showed low PROT C levels which were not congenital since his parents had normal PROT C levels. This deficiency was a consequence and not the TVP cause. His lower factor V, pre albumin levels, TT and TP stretching suggested a decrease of the proteic synthesis. Lupus anticoagulant was found in one patient and may be assumed as the TVP cause. Lower pre albumin levels may mean either a synthesis decrease caused by modulation or disordered synthesis. The most probable causes for factor II and V decrease, TP as well as TT length are synthesis modulation or consumption brought by activated coagulation. Consequently, plasmatic levels of various components of coagulation and fibrinolysis in TVP patients were determined by studying some hemostasis parameters. Congenital deficiencies of coagulation inhibitors in TVP etiology were not found.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS\*

---

1. ALKJAERSEG, N.; FLATCHER, A.P.; SHERRY, S. - The mechanism of clot dissolution by plasmin. *J. Clin. Invest.*, **38**:1086, 1959.
2. ALVAREZ, F.; BERNARD, O.; BRUNELLE, F.; HADCHOUEL, P.; ODIÈVRE, M.; LAGILLE, D. - Portal obstruction in children. I. Clinical investigation and hemorrhage risk. *J. Pediatr.*, **103**:696-702, 1983.
3. AMIN, H.M.; OMRAN, S.A.; EL-BASSUONI, N.E.; EL-KALIOUBY, A.H.; EL-ASHMAWY, S.A. - Assesment of factors II, VII, IX, and protein C in hepatosplenic schistosomosis. *Haemostasis*, **24**:22-6, 1994.
4. ANDREW, M.; VEGH, P.; JOHNSTON, M.; BOWKER, J.; OFOSU, F.; MITCHELL, L. - Maturation of the hemostatic system during childhood. *Blood*, **80**:1998-2005, 1992.
5. ANNICHINO-BIZZACCHI, J.M.; RIBEIRO, C.C.; GALLIZZONI, A.M.; SILVA, V.M.; BOCATTO, R.S.B.S.; GONÇALVES JR., F.L. - Hemostasis in blood donors with hepatitis C virus. *Haemostasis*, **23**:335-6, 1993.
6. ARAV-BORGER, R.; REIF, S.; BUJANOVER, Y. - Portal vein thrombosis caused by protein C and protein S deficiency associated with cytomegalovirus infection. *J. Pediatr.*, **126**:586-8, 1995.
7. ARNOLD, K.; CHAR, G.; SERJEANT, G. - Portal vein thrombosis in a child with homozygous sickle-cell disease. *W. I. Med. J.*, **43**:27-8, 1993.

---

\* HERANI, M.L.G. - Normas para apresentação de dissertações e teses. BIREME, São Paulo, 1991. 45p.

8. ARRUDA, V.R.; ANNICHINO-BIZZACCHI, J.M.; COSTA, F.; REITSMA, P.H. - Factor V Leiden (FVQ 506) is common in a Brazilian population. **Am. J. Hematol.**, **39**: 242-3, 1995.
9. ASTRUP, T. - Fibrinolysis in the organism. **Blood**, **11**:781, 1956.
10. BAAR, R.; ALLARDYCE, M.; BRUNT, P.; McPHIE, J. - Dysfibrinogenemia and liver cell growth. **J. Clin. Pathol.**, **31**:31-89, 1978.
11. BELIN, D. - Biology and facultative secretion of plasminogen activator inhibitor - 2. **Haemostasis**, **70**:144-7, 1993.
12. BELLI, L.; ROMANI, F.; RIOLO, F.; RONDINARA, G.; ASENI, P.; DI STEFANO, M.; CONTORNI, L.; BINI, M. - Thrombosis of the portal vein in absence of hepatic disease. **Surg. Gynecol. Obstet.**, **169**:46-9, 1989.
13. BICK, R.L. & BAKER, W.F. - Antiphospholipid and thrombosis syndromes. **Seminars in thrombosis and hemostasis**, **20** (1):3-15, 1994.
14. BLIX, S. - The fibrinolysis of plasma clots under various conditions. **Acta Med. Scand.**, **169**:495, 1961.
15. BLOOM, A. - Physiology of blood coagulation. **Haemostasis**, **20**:14-29, 1990.
16. BONEU, B.; BES, G.; PELZER, H.; SIÉ, P.; BOCALON, H. - Thrombin Antithrombin III complexes and prothrombin fragments 1+2: Diagnostic value in clinically suspected deep vein thrombosis. **Thromb. Haemostas.**, **65**:28-32, 1991.
17. BOVILL, E.G.; ANDREW, M.; MICHELSON, A.D. - Anticoagulation therapy in children. **Hematology**, **51**:67-74, 1995.
18. BROWN, M.; KAPLAN, M.M.; DANOWITZ, M. - Extrahepatic portal venous thrombosis: frequent recognition of associated diseases. **J. Clin. Gastroenterol.**, **7**:153-9, 1985.
19. CARRERAS, LO.; MACHIN, J.; DEMAN, R. - Arterial thrombosis, intrauterine death and "Lupus" anticoagulant: detection of immunoglobulin interfering with prostacyclin formation. **Lancet**, **1**:244-6, 1981.
20. CHAMBOM, J.; HERNIGOU, A.; AIACH, M.; BLOCH, F.; PETITE, J. - Deux cas de thrombose portale avec déficit en protéine C. **Gastroenterol. Clin. Biol.**, **14**:784, 1990.

21. CLAUDEL, N.; NEGRIER, C.; VINCENT, E.; DESBAUMES, J.- Thrombose portale associée à un déficit en protéine S de type 1. **Press Med.**, **21**:320, 1992.
22. CLAUSS, A. - A gerinnungsphysiologische schenel methode zur bestimmung des fibrinogens. **Acta Haematol.**, **37**:237-46, 1957.
23. COHEN, J.; EDELMAN, R.; CHOPRA, S. - Portal vein thrombosis: A Review. **Am. J. Med.**, **92**: 173-82, 1992.
24. COMP, P.C. - Control of coagulation reaction. In: WILLIAMS J.W.; BENTLER, E.; ERLEV, A. & LICHTMAN, M.A. - Hematology. 14 th ed New York, **McGraw Hill**, 1:1304-11, 1990.
25. CONARD, J. - Screening for inhirited thrombotic disorders. **Res. Clin. Lab.**, **19**:391-402, 1986.
26. COSIO, F.G.; HARKER, C.; BATARD, M.A.; BRANDT, J.C.; GRIFFIN, J.H. - Plasma concentrations of the natural anticoagulants protein C and protein S in patients with proteinuria. **J. Lab. Clin. Med.**, **106**:218-22, 1985.
27. DAHLBÄCK, B. - Inherited resistance to activated protein C, a major cause of venous thrombosis, is due to a mutation in the factor V gene. **Haemostasis**, **24**:139-151, 1994.
28. DAVID, M. & ANDREW, M. - Venous thromboembolic complications in children. **J. Pediatr.**, **123**:337-46, 1993.
29. DAVIES, P. F. - Endothelium as a signal transduction interface for flow forces: cell surface dynamics. **Thromb. Haemost.**, **70**:124-8, 1993.
30. ESPANA, F.; ESTELLES, A.; AZNAR, J.; GILABERT, J. - Assay of proten C in human plasma: comparison of amidolytic coagulation and immunochemical assays. **Thromb Res.**, **44**: 771-82, 1986.
31. EUROPEAN CONCERTED ACTION ON THROMBOSIS.(1985). **Bulletin ECAT**, n.2 Assay procedures.
32. FRANCIS, C.W. & MARDER, V.J. - Mechanisms of fibrinolysis. In: WILLIAMS, W.J.; BENTLER, E.; ERLEV, A.J.; LICHTMAN, M. (eds.) - **Hematology**. McGraw Hill, New York, 1990. p. 1313-21.
33. GAMEIRO, L.; PARIENTE, E.; DUPUIS, E.; GERVAIS, T.; VIALA, J.; TRINH, D. - Thrombose portale et déficit héréditaire en protéine C. **Gastroenterol. Clin. Biol.**, **16**:177-81, 1992.

34. GIMSON, A.E.S. - Hepatic dysfunction during bacterial sepsis. **Intensive care in Med.**, **13**: 162-6, 1987.
35. GRIFFIN, J.H.; EVATT, B.; ZIMMERMAN, T.S; KLEISS, A.; WIDEMAN, C. - Deficiency of protein C in congenital thrombotic disease. **J. Clin. Invest.**, **68**: 1370-3, 1981.
36. GRIFFIN, J.; EVATT, B.; WIDEMAN, C.; FERNÁNDEZ, J. - Anticoagulant Protein C pathway defective in majority of thrombophilic patients. **Blood**, **7**: 1989-93, 1993.
37. GRIFFIN, J.; PETRÖ, I; BLASKÓ, G.; SAS, G. - A protein S deficient family with portal vein thrombosis. **Thromb. Haemostas.**, **54**:724, 1985.
38. HARRINSON, R. & ALPERIN, J. - Concurrent protein C deficiency and lupus anticoagulants. **Am. J. Hematol.**, **16**:920-3, 1992.
39. HASSELAAR, P.; DERKSEN, M.; BLOKZIJL, L.; DE GROOT, G. - Thrombosis associated with antiphospholipid antibodies cannot be explained by effects on endothelial and platelet prostanoid synthesis. **Thromb. Haemostas.**, **59**:80-5, 1988.
40. HINSBERG, B.; KOOISTRA, T.; van BERG, E.; PRINCEN, H.; FIERS, W.; EMEIS, J. - Tumor necrosis factor increases the production of plasminogen activator inhibitor in human endothelial cells in vitro and in rats in vivo. **Blood**, **72**:1467-73, 1988.
41. HOOGENDOORN, H.; TOH, C.; NESHEIM, M.; GILES, A. - Alpha 2 macroglobulin binds and inhibits activated protein C. **Blood**, **78**:2283-90, 1991.
42. KAPLAN, K. - Portal vein thrombosis. **N. Engl. J. Med.**, **325**:1384, 1991.
43. KOHN, J.; HERNANDEZ, M.; RICHES, P. **Ricerca Clin. Lab.**, **8**:61-8, 1978.
44. KOSTER, T.; ROSENDAAL, F.; RONDE, H.; BRIËT, E.; VANDENBROUCKE, J.; BERTINA, R. - Venous thrombosis due to poor anticoagulant response to activated protein C : Leiden thrombophilia study. **Lancet**, **342**:1503-6, 1993.
45. KRUITHOF, E. - Review. Plasminogen activator inhibitor type 1: Biochemical, biological and clinical aspects. **Fibrinolysis**, **2**:59-70, 1988.

46. KRUSKAL, J.; ROBSON, S.; FRANKS, J.; KIRSCH, R. - Elevated fibrin-related and fibrinogen-related antigens in patients with liver disease. **Hepatology**, **16**: 920-3, 1992.
47. KWAAN, H.C. - The role of fibrinolysis in disease processes. **Semin. Thromb. Hemost.**, **10**:71-9, 1984.
48. LAURELL, C.B. - Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarose gell containing antibodies. **Anal Biochem.**, **15**:45-52, 1966.
49. LEVY, J.; PETTEI, M.; WEITZ, J. - Dysfibrinogenemia in obstructive liver disease. **J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.**, **6**:967-70, 1987.
50. LOSKUTOFF, D.J; SAWDEY, M.K; KEETON, M.; SCHNEIDERMAN, J. - Regulation of PAI-1 gene expression in vivo. **Thromb. Hemostas.**, **70**:135-7, 1993.
51. MALM, J.; COHEN, E.; DACKOWSI, W.; DAHLBÄCK, B.; WYDRO, R. - Expression of completely gama-carboxylated and beta-hydroxylated recombinant human vitamin k - dependent protein S with full biological activity. **Eur. J. Biochem.**, **187**:737-43, 1990.
52. MANNUCCI, M.; CANCIANI, M.; MARI, D.; MEUCCI, P. - The varied sensitivity of partial thromboplastin and prothrombin time reagents in the demonstration of the lupus-like anticoagulant. **Scand J. Haematol.**, **22**:423-32, 1979.
53. MARAGANORE, J.M. - Thrombin, thrombin inhibitors, and the arterial thrombotic process. **Thromb. Haemost.**, **70**:208-11, 1993.
54. MARTIN, U.; MOLLENDORFF, E.; ENGEL, R.; KAUFMANN, E.; NEUGEBAUER, G. - Pharmacokinetic and hemostatic properties of the recombinant plasminogen activator BM06.022 in healthy volunteers. **Thromb. Haemost.**, **66**:569-74, 1991.
55. MARTINEZ, J.; PALASCAK, J.; KWASNIEK, D. - Abnormal sialic acid content of the dysfibrinogenemia associated with liver disease. **J. Clin. Invest.**, **61**: 535-8, 1978.
56. MEHLS, O.; ANDRASSY, K.; KODERISCH, J.; HERZOG, U.; RITZ, E. - Hemostasis and thromboembolism in children with nephrotic syndrome: Differences from adults. **J. Pediatr.**, **110**:862-7, 1987.

57. MILANO, G.; COOPER, E.; GOLIGHER, J.; GILES, R.; NEVILLE, A. - Serum prealbumin, retinol binding protein, transferrin, and albumin levels in patients with large bowel cancer. **J. Natl. Institut.**, **61**:687-91, 1978.
58. MOUREY, L.; SAMAMA, J.P.; DALARUE, M.; CHOAY, J.; LORMEAU, J.C.; PETITOU, M.; MORAS, D. - Antithrombin III: structural and functional aspects. **Biochimie**, **72**:599-608, 1990.
59. NAWROTH, P.P. & STERN, D. - Modulation of endothelial cell hemostatic properties by tumor necrosis factor. **J. Exp. Med.**, **163**:740-5, 1986.
60. NUIJENS, J.H.; HUIJBREGTS, C.C.M.; COHEN, M.; NAVIS, G.O.; de VRIES A.; EERENBERG, A.J.M.; BAKKER, J.C; HACK, C.E. - Coagulation in vivo and in vitro: quantification of activated Hageman factor-C1-inhibitor complexes and kallikrein-C1-inhibitor complexes by specific radioimmunoassays. **Thromb. Haemostas.**, **58**:778-85, 1987.
61. ODIÈVRE, M.; PIGÉ, G.; ALAGILLE, D. - Congenital abnormalities associated with extrahepatic hypertension. **Arch. Dis. Child.**, **52**:383, 1977.
62. OLIVEIRA, P.D.; OLIVEIRA, M.G.; PINA, F.; AGUIAR ANDRADE, J.; PINA-CABRAL, J.M. - Protein C and S with advanced prostatic cancer. **Thromb Res.**, **66**:195-200, 1991.
63. PROCTOR, P.R. & RAPAPORT, S.L. - The partial thromboplastin time with kaolin: A simple screening test for first stage plasma clotting factor deficiencies. **Am. J. Clin. Pathol.**, **36**:212, 1961.
64. PROST, D.; OLLIVIER, V.; TERNISIEN, C.; CHOLLET-MARTIN, S. - Increased monocyte procoagulant activity independent of the lupus anticoagulant in patients with systemic lupus erythematosus. **Thromb. Haemostas.**, **64**:216-21, 1990.
65. QURESHI, H.; SIDDIQUI, K.; AHMAD, R.; MAHER, M.; ALI, A.; AHMED, W.; ZUBERI, S. - Portal vein thrombosis following sclerotherapy. **Hepato-Gastroenterol.**, **39**:427-8, 1992.
66. RATTNER, D.; ELLMAN, L.; WARSHAW, A. - A portal vein thrombosis after elective splenectomy. **Arch Surg.**, **128**:565-70, 1993.
67. ROBSON, S.; KAHN, D.; KRUSKAL, J.; BIRD, A.; KIRSCH, R. - Disordered hemostasis in extrahepatic portal hypertension. **Hepatol.**, **18**:853-7, 1993.

68. ROEISE, O.; SIVERTSEN, S.; RUUD, T.E.; BOUMA, B.N.; STADAAS, J.O.; AASEN, A.O. - Studies on components of the contact phase system in patients with advanced gastrointestinal cancer. **Cancer**, **65**:1355-59, 1990.
69. ROMAN, J.; VELASCO, F.; FERNANDEZ, F.; FERNANDEZ, M.; VILLALBA, R.; RUBIO, V.; VICENTE, A.; TORRES, A. - Coagulation, fibrinolytic and kallikrein systems in neonates with uncomplicated sepsis and septic shock. **Haemostasis**, **23**:142-8, 1993.
70. RONDANA, M.; MILANI, L.; MERKEL, C.; CAREGARO, L.; GATTA, A. - Value of prealbumin plasma levels as liver test. **Digestion**, **37**:72-78, 1987.
71. ROSENDAAL, F. R.; KOSTER, T.; VANDENBROUCKE, J. P.; REITSMA, P.H. - High risk of thrombosis in patients homozygous for factor V Leiden (activated protein C resistance). **Blood**, **85**:1504-8, 1995.
72. SAHNI, P.; PANDE, G.; NUNDY, S. - Extrahepatic portal vein obstruction. **Br. J. Surg.**, **77**:1201-2, 1990.
73. SAIKI, R.K.; GELFAND, D.H.; STOFFEL, S.; SCHARF, S.J.; HIGUCHI, R.; HORN, G.T.; MULLIS, K.B.; ERLICH, H.A. - Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. **Science**, **239**: 487-91, 1988.
74. SAMBROOK, J.; FRITSCH, E.F.; MANIATIS, T. - Molecular cloning. A Laboratory Manual (ed2). Cold Spring Harbor, New York, Cold Spring Harbor Laboratory, 1989.
75. SANTOS, J.; SILVA, A.; ALEXANDRINO, P.; SALDANHA, T.; CARRAGETA, M.; FERREIRA, E.; PÁDUA, F. - Hereditary protein C deficiency and portal vein thrombosis. **Neth J. Med.**, **38**:212-6, 1991.
76. SIRRIDGE, M.S. & SHANNON, R. - Laboratory evaluation of hemostasis and thrombosis. 3<sup>rd</sup> Ed. Philadelphia: Lea and Febiger, 1983.
77. SVENSON, P.J. & DAHLBÄCK, B. - Resistance to activated protein C as a basis for venous thrombosis. **N. Engl. J. Med.**, **330**:517-22, 1994.
78. THIAGARAJAN, P.; PENGU, V.; SHAPIRO, S.S. - The use of dilute Russell viper venom time for the diagnosis of lupus anticoagulants. **Blood**, **68**:869-74, 1986.
79. TRESOLDI, T. - **Hepatometria em crianças de zero a 10 anos de idade. Estabelecimento de valores de referência, para uso clínico, de algumas**

**medidas estimadas ao exame físico.** [Tese de Doutorado - Faculdade de Ciências Médicas, UNICAMP, 1987.]

80. TRIPLETT, D.A.; BRANDT, J.T.; KACZOR, D.; SCHAEFFER, M.S. - Laboratory diagnosis of Lupus inhibitors: A comparison of the tissue thromboplastin inhibition procedure with a new platelet neutralization procedure. **A.J.C.P.**, 79:678-82, 1982.
81. VALLA, D.; DENNINGER, M.; DELVIGNE, J.; RUEFF, B.; BENHAMOU, J. - Portal vein thrombosis with rupture oesophageal varices as presenting manifestation of hereditary protein C deficiency. **Gut**, 29:856-9, 1988.
82. van BERGEN, P.; KNOT, E.; JONKER, J.; BOER, A.; MAAT, M. - Is quantitative determination of fibrin(ogen) degradation products and thrombin antithrombin III complexes useful to diagnose deep venous thrombosis in out patients? **Thromb. Haemostas.**, 62:1043-5, 1989.
83. VERSTRAETE, M. & VERMYLEN, J. - **Thrombose**. Ed. Sarvier, São Paulo, 1989. 356p.
84. VOORHEES, A. & PRICE, J.- Extrahepatic portal hypertension. **Ann. Surg.**, 108: 338-431, 1974.
85. WALKER, F. & FAY, P. - Regulation of blood coagulation by protein C system. **FASEB J.**, 6:1561-7, 1992.
86. WARE, R.; HALL, S.; ROSSE, W. - Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria with onset in childhood and adolescence. **N. Engl. J. Med.**, 325:991-6, 1991.
87. WEBB, L. & SHERLOCK, S.- The aetiology, presentation and natural history of extrahepatic venous obstruction. **Q. J. Med.**, 48:627-639, 1979.
88. WEINSTEIN, R.E. & WALKER, F. I. - Species specificity of the effects of activated protein C. **Thromb. Res.**, 63:123-31, 1991.
89. ZINI, J.M.. - Physiopathology of thrombosis induced by antiphospholipid antibodies. **Clin. Rev. Al Immunol.**, 13:5-9, 1993.